

(19) 世界知的所有權機關
國際事務局



(43) 國際公開日
2004 年 6 月 24 日 (24.06.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/053121 A1

- | | |
|---|---|
| (51) 国際特許分類 ⁷⁾ : C12N 15/09, C07K 14/47, C12Q 1/02, 1/68, G01N 33/15, 33/50, 33/53, 33/566 | (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法人慶應義塾 (KEIO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒108-0073 東京都港区三田二丁目15番45号 Tokyo (JP). |
| (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/014749 | (72) 発明者; および |
| (22) 国際出願日: 2003年11月19日 (19.11.2003) | (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宮本 悦子 (MIYAMOTO, Etsuko) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-1 4-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 石坂 正道 (ISHIZAKA, Masamichi) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-1 4-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 柳川 弘志 (YANAGAWA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-1 4-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). |
| (25) 国際出願の言語: 日本語 | |
| (26) 国際公開の言語: 日本語 | |
| (30) 優先権データ:
特願2002-360046
2002年12月11日 (11.12.2002) JP | |

〔統葉有〕

- (54) Title: PROTEIN FORMING COMPLEX WITH c-Fos PROTEIN, NUCLEIC ACID ENCODING THE SAME AND METHOD OF USING THE SAME**

- (54) 発明の名称: c-Fos蛋白質と複合体を形成する蛋白質、及び、それをコードする核酸、ならびに、それらの利用方法

[illegible]

A		C		E		F	
7/25/82	B	7/25/82	D	7/25/82	E	7/25/82	F
37-81	At 100 mms this outbreak (C90). NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C, 14620C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-84	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-85	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-86	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-87	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-88	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-89	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-90	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-91	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-92	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-93	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-94	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-95	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-96	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-97	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-98	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-99	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		
37-100	100 mms outbreak (C90) NMJ 10-100		14617C, 14618C, 14619C	1	14617C, 14618C, 14620C, 14621C		

A...AMINO ACID SEQUENCE NO.
B...PROTEIN, GENE NAME, ACCESSION NO.
C...LEU ZIPPER
D...NUCLEIC ACID SEQUENCE NO.
E...NO. OF CLONES
F...OTHER NAMES
G...FRAME SHIFT
H...GENOME

(57) Abstract: It is intended to provide a protein interacting with c-Fos; an inhibitor using the same; a method of detecting the interaction with the use of a protein interacting with c-Fos; and a screening method. Using the *in vitro* virus (IVV) cotranslation method and the C-end labeling method, transcription regulatory factor complexes are overwhelmingly analyzed from a mouse brain cDNA library with the use of c-Fos as bait. Thus, proteins which have never been known so far or proteins which have never been known as forming a complex with c-Fos protein though having been known in public per se are analyzed.

(57) 要約: c-Fosと相互作用する蛋白質ならびにそれを利用した阻害剤、およびc-Fosと相互作用する蛋白質を利用した相互作用の検出方法及びスクリーニング方法を提供する。in vitroウイルス(TV)の共翻訳スクリーニングおよびC末端ラベル化法を用いて、c-Fosをベイトとして、マウス脳のcDNAライブラリーから転写制御因子複合体解析を網羅的に行い、これまで知られていなかった蛋白質、又は蛋白質としては公知であったが、c-Fos蛋白質と複合体を形成することは知られていなかった蛋白質などを解析する。

BEST AVAILABLE COPY



(74) 代理人: 川口 嘉之, 外 (KAWAGUCHI, Yoshiyuki et al.); 〒103-0004 東京都 中央区 東日本橋3丁目4番10号 アクロポリス 21ビル6階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

c-Fos蛋白質と複合体を形成する蛋白質、及び、それをコードする核酸、ならびに、それらの利用方法

技術分野

本発明は、c-Fosと相互作用する蛋白質及びそれをコードする核酸ならびにそれらを利用した阻害剤、ならびに、c-Fosと相互作用する蛋白質を利用した相互作用の検出方法及びスクリーニング方法に関する。

現在、多様な生物のゲノムの塩基配列が解読されようとしている。ゲノムシーケンスの研究では、第2幕のポストシーケンスの研究として、解読したゲノム情報からその意味を解析する研究、すなわち、遺伝子や蛋白質の構造や機能解析(非特許文献1、非特許文献2)、および蛋白質間、核酸-蛋白質間相互作用解析などが期待されている(非特許文献3、非特許文献4)。

以上のような技術を駆使したポストゲノム機能解析によって、蛋白質間および蛋白質-核酸間などの相互作用ネットワーク解析から公知の蛋白質の新たな機能やこれまで知られていなかった新規の蛋白質などの重要な生体酵素の発見による医薬品の創製などが期待されている。

蛋白質間相互作用の検出方法として、これまで免疫沈降(非特許文献5)、GST融合蛋白質によるプルダウン・アッセイ(非特許文献6)、TAP法(非特許文献7)、酵母ツーハイブリッド法(非特許文献8)などが知られている。一方、進化分子工学のツールとして誕生した「遺伝子(遺伝子型)と蛋白質(表現型)の対応付け」を応用して、ポストゲノム機能解析における蛋白質間相互作用を網羅的に解析する方法として、in vitroウイルス法(非特許文献9、非特許文献10、特許文献1、特許文献2)、STABLE法(非特許文献11)、ファージディスプレイ法(非特許文献12)、リボソーム・ディスプレイ法(非特許文献13、特許文献3)、mRNA-ペプチドヒュージョン(mRNAディスプレイ)法(非特許文献14)などである。

さらに、表面プラズモン共鳴法、蛍光共鳴エネルギー移動法、蛍光偏光解消法、エバネッセント場イメージング法、蛍光相関分光法、蛍光イメージング法、固相酵素免疫検定法などが知られている。また、ピューロマイシン等の核酸誘導体を用い

て翻訳系中で蛋白質のC末端を修飾する方法(特許文献4、特許文献5)を先に提案している。これらの方法は、従来の化学修飾法や蛍光蛋白質融合法に比べて、蛋白質の機能を損ないにくい等の利点がある。

生命科学の領域ではヒトゲノムの配列解析が終了し、ゲノム研究は遺伝子の機能解析のポストゲノム時代に突入し、網羅的なゲノム機能解析による創薬などが期待されている。これまで単独で研究されていた遺伝子や蛋白質を網羅的に解析できる手法、たとえば、創薬のターゲット蛋白質である転写制御因子の種種のコファクターなどを一度に解析する手法などが所望されている。転写制御因子としては、c-Fos蛋白質がよく知られている。

ここで、v-fos遺伝子は、FBJマウス骨肉腫ウイルス(FBJ murine osteosarcoma virus)のもつ癌遺伝子として単離された(非特許文献15)。c-fosは、典型的な極初期遺伝子(immediate early gene)として、多くの細胞種で増殖刺激に伴って検出される転写制御因子である。Fos関連抗原(Fos-related antigen: Fra)からfra-1とfra-2がクローニングされ、またc-fosと塩基配列に相同性のある遺伝子としてfosBも見出された。これらはc-fosとともにfosファミリー遺伝子を構成する。c-fosを高レベルで発現するキメラマウスとトランスジェニックマウスは、それぞれ軟骨腫や骨肉腫を形成することが知られている(非特許文献16)。

これまでに、c-fosと相互作用する遺伝子として、junファミリー遺伝子であるc-jun、junB、junDなどいろいろな蛋白質が知られているが(非特許文献17)、最近、ツーハイブリッド法によって、転写制御因子Fos/Jun (AP-1)がSWI/SNFのBAF60aと複合体を形成して、クロマチンのリモデリングを誘導することがわかった。また、AP-1は、脳神経系の蛋白質であるNFATと結合してIL2遺伝子の発現を制御することがわかった。前者は、腫瘍形成・癌化に関わり、後者は、自己免疫疾患やアルツハイマーに関わる全く異なる疾患を誘発する二つの蛋白質である。このように、転写制御因子のいろいろな複合体の網羅的解析は、創薬のターゲット蛋白質の新たな宝庫として大変興味深い。しかしながら、ツーハイブリッド法のような総当たりのな1:1分子解析手法では、大変な時間と労力がかかる。

<非特許文献1>

Saegusa A. Nature 401, 6751 (1999)

<非特許文献 2>

Dalton R, Abbott A. Nature 402, 6763 (1999)

<非特許文献 3>

宮本悦子、柳川弘志 (2000) シリーズ・ポストシーケンスのゲノム科学3: プロテオミクス, pp.136-145

<非特許文献 4>

宮本悦子、柳川弘志 (2001) 蛋白質・核酸・酵素、46(2), pp.138-147)

<非特許文献 5>

Xiong et al. 1993 Nature 366, 701-704

<非特許文献 6>

Kaelin, et al. 1991 Cell 64, 521-532

<非特許文献 7>

Guillaume Rigaut, et al., Nature biotechnology 17, 1030 (1999)

<非特許文献 8>

Fields S, Song O. Nature 340, 245 (1989)

<非特許文献 9>

Miyamoto-Sato E, et al. Viva Origino 25, 35 (1997)

<非特許文献 10>

Nemoto N, et al. FEBS Lett. 414, 405 (1997)

<特許文献 1>

国際公開第WO 98/16636号パンフレット

<特許文献 2>

国際公開第WO 02/46395号パンフレット

<非特許文献 11>

Doi N, Yanagawa H. FEBS Lett. 457, 227 (1999)

<非特許文献 12>

Smith G.P. Science 228, 1315 (1985)

<非特許文献 13>

Mattheakis, L.C. et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 9022-9026

<特許文献3>

国際公開第WO 95/11922号パンフレット

<非特許文献14>

Roberts R.W, Szostak J.W. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 12297

<特許文献4>

米国特許第6,228,994号明細書

<特許文献5>

国際公開第WO 02/48347号パンフレット

<非特許文献15>

Curran, T. et al.: J.Viol., 44: 674-682, 1982

<非特許文献16>

Agamemnon, E. G. et al.: Trends Genet., 11: 436-441, 1995

<非特許文献17>

Yurii Chinenov1 and Tom K Kerppola, Oncogene (2001) 20, 2438-2452

発明の開示

本発明は、転写制御因子として良く知られているc-Fos蛋白質をターゲット蛋白として、c-Fosと相互作用する複合体を提供することを課題とする。

本発明者らは、それに代わる1:多分子解析法である網羅的解析手法として、上述のin vitroウイルス法を土台とし、これまでに研究を重ねてきたビューロマイシンテクノロジーと命名した二つの技術、in vitroウイルス(IVV)の共翻訳セレクション/スクリーニングおよびC末端ラベル化法(米国特許第6228994号、WO 02/48347)を用いて、c-Fosをベイトとして、マウス脳のcDNAライブラリーから転写制御因子複合体解析を網羅的に行い、これまで知られていなかった蛋白質、あるいは蛋白質としては公知であったが、c-Fos蛋白質と複合体を形成することは知られていなかった蛋白質などを解析することを試みた。ここで複合体を形成するとは、c-Fos蛋白質と直接又は間接的な相互作用がある蛋白質である。

本発明の課題は、c-Fosと相互作用する蛋白質ならびにそれを利用した阻害剤、およびc-Fosと相互作用する蛋白質を利用した相互作用の検出方法及びスクリーニ

ング方法を提供することである。

本発明者らは、共翻訳スクリーニングにより、c-Fosと相互作用する新規蛋白質を見出すとともに、既知の蛋白質がc-Fosと相互作用することを見出し、本発明を完成した。本発明は、以下のものを提供する。

1. 以下の (a) 又は (b) の蛋白質。

(a) 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

2. 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列を含む 1 記載の蛋白質。

3. 1 又は 2 記載の蛋白質をコードする核酸。

4. 以下の (a) 又は (b) の核酸。

(a) 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

5. 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列を含む 4 記載の核酸。

6. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、1～2 のいずれか 1 項に記載の蛋白質、又は 3～5 のいずれか 1 項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

7. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、1～2 のいずれか 1 項に記載の蛋白質、又は 3～5 のいずれか 1 項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

8. 7 記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

9. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

10. 有効成分の蛋白質が配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列を含む 9 記載の阻害剤。

11. 蛋白質が以下の (a) 又は (b) の核酸から翻訳された蛋白質である 9 記載の阻害剤。

(a) 配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

12. 核酸が配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列を含む 11 記載の阻害剤。

13. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

14. 蛋白質が配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列を含む 13 記載の方法。

15. 核酸が配列番号 39～43 のいずれかの塩基配列を含む 13 記載の方法。

16. 13～15のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

17. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

18. 有効成分の蛋白質が配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む17記載の阻害剤。

19. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である17記載の阻害剤。

(a) 配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号44～46のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

20. 核酸が配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む19記載の阻害剤。

21. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号44～46のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェン

トな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

22. 蛋白質が配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む21記載の方法。

23. 核酸が配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む21記載の方法。

24. 21～23のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

25. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

26. 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列を含む25記載の蛋白質。

27. 25又は26記載の蛋白質をコードする核酸。

28. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号104～118のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号104～118のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

29. 配列番号104～118のいずれかの塩基配列を含む28記載の核酸。

30. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、25～26のいずれか1項に記載の蛋白質、又は27～29のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

31. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、25～26のいずれか1項に記載の蛋白質、又は27～29のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

32. 31記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、

及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

33. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

34. 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列を含む33記載の蛋白質。

35. 33又は34記載の蛋白質をコードする核酸。

36. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号119～140のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号119～140のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

37. 配列番号119～140のいずれかの塩基配列を含む4記載の核酸。

38. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、33～34のいずれか1項に記載の蛋白質、又は35～37のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

39. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、33～34のいずれか1項に記載の蛋白質、又は35～37のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

40. 39記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

41. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個の

アミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

42. 有効成分の蛋白質が配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む41記載の阻害剤。

43. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である41記載の阻害剤。

(a) 配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号141～145のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

44. 核酸が配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む43記載の阻害剤。

45. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号141～145のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

46. 蛋白質が配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む45記載の方法。

47. 核酸が配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む45記載の方法。

48. 45～47のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイとの間の

相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

49. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

50. 有効成分の蛋白質が配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む49記載の阻害剤。

51. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である49記載の阻害剤。

(a) 配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号146～148のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

52. 核酸が配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む51記載の阻害剤。

53. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号146～148のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質を

コードする核酸。

54. 蛋白質が配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む53記載の方法。

55. 核酸が配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む53記載の方法。

56. 53～55のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

57. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

58. 有効成分の蛋白質が配列番号85又は86のアミノ酸配列を含む57記載の阻害剤。

59. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である57記載の阻害剤。

(a) 配列番号149もしくは150の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号149もしくは150の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

60. 核酸が配列番号149又は150の塩基配列を含む59記載の阻害剤。

61. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミ

ノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号149もしくは150の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号149もしくは150の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

62. 蛋白質が配列番号85又は86のアミノ酸配列を含む61記載の方法。

63. 核酸が配列番号149又は150の塩基配列を含む61記載の方法。

64. 61～63のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

65. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

66. 有効成分の蛋白質が配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列を含む65記載の阻害剤。

67. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である65記載の阻害剤。

(a) 配列番号151～153のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号151～153のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

68. 核酸が配列番号151～153のいずれかの塩基配列を含む67記載の阻害剤。

69. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以

下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 87～89 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 87～89 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

70. 蛋白質が配列番号 87～89 のアミノ酸配列を含む 69 記載の方法。

71. 核酸が配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む 70 記載の方法。

72. 69～71 のいずれか 1 項に記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

73. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 90 もしくは 91 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 90 もしくは 91 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

74. 有効成分の蛋白質が配列番号 90 もしくは 91 のアミノ酸配列を含む 73 記載の阻害剤。

75. 蛋白質が以下の (a) 又は (b) の核酸から翻訳された蛋白質である 74 記載の阻害剤。

(a) 配列番号 154 もしくは 155 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 154 もしくは 155 の塩基配列からなる核酸とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコード

する核酸。

76. 核酸が配列番号154又は155の塩基配列を含む75記載の阻害剤。

77. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号90もしくは91のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号90もしくは91のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号154もしくは155の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号154もしくは155の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

78. 蛋白質が配列番号90又は91のアミノ酸配列を含む69記載の方法。

79. 核酸が配列番号154又は155の塩基配列を含む70記載の方法。

80. 77~79のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

81. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

82. 有効成分の蛋白質が配列番号92又は93のアミノ酸配列を含む81記載の阻害剤。

83. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である82記載の阻害剤。

(a) 配列番号 156 もしくは 157 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 156 もしくは 157 の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

84. 核酸が配列番号 156 又は 157 の塩基配列を含む 83 記載の阻害剤。

85. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 92 もしくは 93 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 92 もしくは 93 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 156 もしくは 157 の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 156 もしくは 157 の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

86. 蛋白質が配列番号 92 又は 93 のアミノ酸配列を含む 85 記載の方法。

87. 核酸が配列番号 156 又は 157 の塩基配列を含む 85 記載の方法。

88. 85～87のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

89. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 94 もしくは 95 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 94 もしくは 95 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

90. 有効成分の蛋白質が配列番号 94 又は 95 のアミノ酸配列を含む 89 記

載の阻害剤。

91. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である90記載の阻害剤。

(a) 配列番号158もしくは159の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号158もしくは159の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

92. 核酸が配列番号158又は159の塩基配列を含む83記載の阻害剤。

93. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号94もしくは95のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号94もしくは95のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号158もしくは159の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号158もしくは159の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

94. 蛋白質が配列番号94又は95のアミノ酸配列を含む93記載の方法。

95. 核酸が配列番号158又は159の塩基配列を含む93記載の方法。

96. 93～95のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

97. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミ

ノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

98. 有効成分の蛋白質が配列番号96又は97のアミノ酸配列を含む97記載の阻害剤。

99. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である98記載の阻害剤。

(a) 配列番号160もしくは161の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号160もしくは161の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

100. 核酸が配列番号160又は161の塩基配列を含む99記載の阻害剤。

101. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号160もしくは161の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号160もしくは161の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

102. 蛋白質が配列番号96又は97のアミノ酸配列を含む101記載の方法。

103. 核酸が配列番号160又は161の塩基配列を含む101記載の方法。

104. 101～103のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

105. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

106. 有効成分の蛋白質が配列番号98又は99のアミノ酸配列を含む105記載の阻害剤。

107. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である98記載の阻害剤。

(a) 配列番号162もしくは163の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号162もしくは163の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

108. 核酸が配列番号162又は163の塩基配列を含む107記載の阻害剤。

109. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号162もしくは163の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号162もしくは163の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

110. 蛋白質が配列番号98又は99のアミノ酸配列を含む109記載の方

法。

111. 核酸が配列番号162又は163の塩基配列を含む109記載の方法。

112. 109～111のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

113. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号100もしくは101のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号100もしくは101のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

114. 有効成分の蛋白質が配列番号100又は101のアミノ酸配列を含む113記載の阻害剤。

115. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である114記載の阻害剤。

(a) 配列番号164もしくは165の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号164もしくは165の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

116. 核酸が配列番号164又は165の塩基配列を含む115記載の阻害剤。

117. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号100もしくは101のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号100もしくは101のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

118. 蛋白質が配列番号 100 又は 101 のアミノ酸配列を含む 117 記載の方法。

119. 核酸が配列番号 164 又は 165 の塩基配列を含む 117 記載の方法。

120. 117～119のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

121. 以下の (a) 又は (b) の蛋白質。

(a) 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 102 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

122. 102 記載の蛋白質をコードする核酸。

123. 以下の (a) 又は (b) の核酸。

(a) 配列番号 166 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 166 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

124. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、121に記載の蛋白質、又は122～123のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

125. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、121に記載の蛋白質、又は122～123のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

126. 125 記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

127. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号103のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号103のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

128. 127記載の蛋白質をコードする核酸。

129. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号167の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号167の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

130. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、127に記載の蛋白質、又は128～129のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

131. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、127に記載の蛋白質、又は128～129のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

132. 131記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

図面の簡単な説明

図1A及び図1Bは、本発明の蛋白質のアミノ酸配列と遺伝子配列などの情報をまとめて示す。DNA配列番号の括弧内の数字は、それがコードするアミノ酸配列の番号を示す。枝番のあるものは、同じアミノ酸配列をコードするが、塩基配列が異なることを示す。図1Aの配列番号1～22；実施例1。図1Aの配列番号47～76及び図1Bの配列番号77～103；実施例2。

図2は、本発明の蛋白質および遺伝子とその塩基配列の検出方法であるIVVランダムライブラリーによる共翻訳スクリーニング法の概略を示す。マウス脳のIVVランダムライブラリーとベイトとしてc-Fosを用いて、無細胞共翻訳スクリーニング

を行い、スクリーニング後のライブラリーをRT-PCRで増幅して再びベイトと共に無細胞共翻訳スクリーニングすることを3回繰り返すことにより本発明の蛋白質および遺伝子とその塩基配列を検出した。

図3は、本発明の蛋白質および遺伝子とその塩基配列の検出に用いたIVVのランダムプライミングライブラリーとその製法の概略を示す。RNAライブラリーを鋳型として、9塩基からなるランダム配列と特定配列(tag 2 配列)を含むランダムプライマーを用いてランダムプライミング法により逆転写でmRNAに相補的な一本鎖cDNA(ssDNA)ライブラリーを合成する(I)。RNaseHによりcDNAとRNAの二本鎖からRNAのみを分解すると同時に、DNAポリメラーゼIによるcDNAに相補的なDNAを合成し、さらに、DNAリガーゼによりDNAポリメラーゼIにより合成されたDNA間にあるニックを修正して二本鎖(dsDNA)ライブラリーを合成する(II)。合成された二本鎖cDNAはDNAポリメラーゼIにより合成された側のみ5'末端にリン酸基を持つのでこれを利用し、特定配列(5' UTR=プロモーター+エンハンサー)を持つアダプターをDNAリガーゼを用いて結合し、ライゲートed dsDNA ライブラリーを合成する(III)。アダプターとランダムプライマーの特定配列を利用してPCRを行い、5'側にプロモーターとエンハンサーの配列、3'側にA tailをもつ対応付け分子のcDNAライブラリー(IVV cDNAライブラリー)を作成する(IV)。次にIVV cDNAライブラリーを転写してIVV RNAライブラリーとし(V)、IVVとするためのスパーサーをライゲーションし(VI)、さらに、無細胞翻訳系などで翻訳すれば、対応付け分子のライブラリーとなる(VII)。

図4は、本発明の蛋白質および遺伝子とその塩基配列の相互作用の検証結果1(電気泳動写真)を示す。

A: 配列番号2(Fip-cx), 16(Eef1dTEF-1), 22(Schip1)のアミノ酸配列を有する蛋白質をC末端ラベル化法により小麦の無細胞翻訳系で確認。レーン1-4; c-Jun蛋白質、配列番号2(Fip-cx), 配列番号16(Eef1dTEF-1), 配列番号22(Schip1)の蛋白質。

B: 配列番号2(Fip-cx), 16(Eef1dTEF-1), 22(Schip1)のアミノ酸配列を有するIVVを小麦の無細胞翻訳系で確認。レーン1、2; mRNA、IVV。I-IV; c-Jun、配列番号2(Fip-cx), 配列番号16(Eef1dTEF-1), 配列番号22(Schip1)。

C: 配列番号2(Fip-cx), 16(Eef1dTEF-1), 22(Schip1)のアミノ酸配列を有す

るIVVによるプルダウンでの相互作用確認。レーン1-3；IVV、上澄、ビーズ。a, b；ベイトc-Fosなし、あり。I-IV；c-Jun、配列番号2(Fip-cx), 配列番号16(Eef1dTEF-1), 配列番号22(Schip1)。

図5は、本発明の蛋白質および遺伝子とその塩基配列の相互作用の検証結果2(電気泳動写真)を示す。

A: 配列番号105, 139, 142, 148, 150, 152, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 166, 167の核酸配列をもとにして、配列番号48(Fip-cx.1), 75(Fip-cx.2), 78(Optn)、84(Snape5), 86(C130020M04Rik), 88(FLJ32000), 91(Rit2), 93(cytochrome b), 95(Apoe), 97(betaAPP), 99(Hsp40), 101(Fip-cl0), 102(Fip-cl4), 103(Fip-cl8)の蛋白質(図1A及び1B)が無細胞翻訳系で発現することをC末端ラベル化法により小麦の無細胞翻訳系で確認。レーン1-14；配列番号48(Fip-cx.1), 75(Fip-cx.2), 78(Optn)、84(Snape5), 86(C130020M04Rik), 88(FLJ32000), 91(Rit2), 93(cytochrome b), 95(Apoe), 97(betaAPP), 99(Hsp40), 101(Fip-cl0), 102(Fip-cl4), 103(Fip-cl8)の蛋白質。

B: 得られた蛋白質とc-Fosとの相互作用の検証実験として、配列番号105, 139の核酸配列をもとにして、配列番号48(Fip-cx.1), 75(Fip-cx.2)の蛋白質のアミノ酸配列を有するC末端ラベル化蛋白質を用いてプルダウン(pull-down)でc-Fosとの直接的な相互作用を確認。レーン1；配列番号48(Fip-cx.1), レーン2；75(Fip-cx.2) a, b: ベイトc-Fosあり、なし(レーン1, 2；翻訳産物、溶出画分)。

図6は、本発明の遺伝子の濃縮率と間接的な相互作用の検証の結果を示す。4種類の配列番号78(Optn)、84(Snape5), 86(C130020M04Rik), 88(FLJ32000)の蛋白質の濃縮を確認するために、配列番号142, 148, 150, 152の核酸配列をもとにしてリアルタイムPCRを行った。

図7は、本発明の蛋白質や核酸配列を用いたIVVの物質や蛋白質との相互作用解析の一次スクリーニングと二次スクリーニングの概略を示す。本発明の蛋白質や核酸配列を用いた、一次スクリーニングで物質や蛋白質と相互作用を検出し、さらに、相互作用の詳細をFCCSやマイクロアレイなどの二次スクリーニングで解析するこ

とが可能である。また、本発明の蛋白質や核酸配列は、IVV又はC末端ラベル化蛋白質として、単独でFCCSやマイクロアレイなどにより物質や蛋白質との相互作用解析に利用することも可能である。また、本発明の蛋白質や核酸配列のIVVを用いた進化分子工学に応用し、一次スクリーニングにより機能性蛋白質の創出に利用することも可能であり、その際に、一次スクリーニングと二次スクリーニングを組み合わせ、創出した機能性蛋白質の相互作用の詳細を解析することも可能である。

図8は、翻訳テンプレート(A)ならびにその構成要素であるコード分子(B)及びスペーサー分子(C)の構成を示す。翻訳テンプレートは、コード分子由来のコード部とスペーサー分子由来のスペーサー部からなる。F1及びF2は蛍光色素を示す。

図9は、C末端修飾された蛋白質(C末端ラベル化蛋白質)(A)、本発明の翻訳テンプレート(B)、及び、修飾剤(C)の構成を示す。

図10は、無細胞共翻訳による複合体の形成の概略を示す。

A: ベイトとプレイが無細胞翻訳系で共に翻訳され相互作用し、無細胞翻訳系において複合体を形成する。プレイは単数(I)であっても複数(II)であっても構わないし、また、無細胞翻訳系での翻訳で得られるポリペプチドそのものであっても、対応付け分子(結合体)であっても構わない。

B: ベイトの共存下、プレイが無細胞翻訳系で翻訳され相互作用し、無細胞翻訳系において複合体を形成する。プレイは単数(I)であっても複数(II)であっても構わないし、また、無細胞翻訳系での翻訳で得られるポリペプチドそのものであっても、対応付け分子(結合体)であっても構わない。

図11は、複合ベイトを用いた場合の無細胞共翻訳による複合体の形成の概略を示す。

複合ベイトを構成する一部のベイトとプレイが無細胞翻訳系で共に翻訳され相互作用し、無細胞翻訳系において複合体を形成する。プレイは、単数(I)であっても複数(II)であっても構わないし、また、無細胞翻訳系での翻訳で得られるポリペプチドそのものであっても、対応付け分子(結合体)であっても構わない。また、複合ベイトは、図に示した無細胞翻訳系で翻訳されたポリペプチドとDNAベイトの組合せに限られず、無細胞翻訳系で翻訳された複数又は単独のポリペプチドと、無細胞

胞翻訳系で共存する複数又は単独のベイト(たとえば、DNAベイトなど)の組み合わせが挙げられる。

図12は、無細胞共翻訳による複合体のスクリーニング方法の概略を示す。

図10及び11で示したような無細胞共翻訳による複合体形成の工程(1)、その複合体のプレイをスクリーニングする工程(2)、及び、プレイの解析の工程(3)により、無細胞共翻訳とスクリーニングをトータルにin vitroで実現することができる。プレイが対応付け分子でかつ複数であれば、RT-PCR又はPCRによってプレイをコードするmRNA又はDNAを再構成することにより再度(1)の工程からスクリーニングを繰り返すことができる。また、得られたプレイを解析後、ベイトとして(1)の工程からスクリーニングを新たに繰り返すことができる。

発明を実施するための最良の形態

<1>本発明の蛋白質

本明細書においては、説明の便宜のため、c-Fosと相互作用することが見出された蛋白質を、新規蛋白質も含めて、本発明の蛋白質と呼ぶ。

本発明の蛋白質の第1の群(図1Aの配列番号1~14)は、c-Fosと複合体を形成する機能もそのアミノ酸配列も新規の蛋白質(Fos interacting protein chromosome X; Fip-cx)である。この蛋白質は、既存のゲノム配列WGS supercontig MmX (NW_042637)に含まれるMAGE/necdin homologous regionのMAGE-necdin/trophinin complexes遺伝子(AB032477)が(+1)フレームシフトした核酸配列(275-829bp)およびアミノ酸配列(184aa)と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質(Yurii Chinenov1 and Tom K Kerppola, Oncogene (2001) 20, 2438-2452)のいずれでもない。また、MAGE-necdin/trophinin complexesは、MAGE(melanoma-associated antigen)として発見されたX染色体に存在する癌・腫瘍関係の遺伝子であることが知られている(Sakura S, et al. (2001) J. Biol. Chem. 276, 49378-49389)が、本蛋白質Fip-cxは、MAGE-necdin/trophinin complexesの遺伝子配列から+1フレームがずれたものであり、MAGE-necdin/trophinin complexes遺伝子についてのフレームシフトは知られていないので、本蛋白質Fip-cxはアミノ酸配

列もc-Fosとの相互作用の機能についても新規の蛋白質である。本蛋白質Fip-cxのアミノ酸配列はロイシンジッパーを含み、直接c-Fosと相互作用を形成することが確認された(図2)。

本発明の蛋白質の第2の群(図1Aの配列番号15～19)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のeukaryotic translation elongation factor-1 delta(Eef1d, TEF-1; NM_023240)遺伝子の遺伝子配列およびアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。本蛋白質Eef1dが、c-Fosと複合体を形成する機能については、今回初めて検出された。Eef1dは、翻訳伸長を調節する蛋白質として知られているが、最近、癌・腫瘍関係の遺伝子でもあることが示され、翻訳因子Eef1dと腫瘍形質転換との関係性として、Fosの発現量が増加するとEef1dの発現量も増加することが報告されている(Joseph P, et al. (2002) J. Biol. Chem. 277, 6131-6136)。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第3の群(図1Aの配列番号20～22)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のschwannomin interacting protein 1(Schip1; NM_013928)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Schip1は、癌・腫瘍関係の遺伝子であることが知られている(Gouthebroze L, et al. (2000) Mol. Cell. Biol. 20, 1699-1712)が、c-Fosと複合体を形成する機能については、今回初めて検出された。本蛋白質は、AP-1の上流の制御遺伝子でありかつAP-1活性を阻害するshwannominと結合する。また、本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第4の群(図1Aの配列番号47～56)は、c-Fosと複合体を形成する機能もそのアミノ酸配列も新規の蛋白質(Fos interacting protein chromosome X.1; Fip-cx.1)である。この蛋白質は、MageファミリーのMage-d3遺伝子(NM_019548)の(+1)フレームシフト遺伝子である。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第5の群(図1Aの配列番号57～76)は、c-Fosと複合体を

形成する機能もそのアミノ酸配列も新規の蛋白質(Fos interacting protein chromosome X.2; Fip-cx.2)である。この蛋白質は、MageファミリーのMagphinin遺伝子(AB032477)の(+1)フレームシフト遺伝子である。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第6の群(図1Bの配列番号77～81)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のOptineurin (Optn; NM_181848)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Optnは、Adult-Onset Primary Open-Angle Glaucomaという視覚障害の原因遺伝子と言われている(Tayebah Rezaie, et al. (2002) Science 295, 1077-1079)。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第7の群(図1Bの配列番号82～84)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のSnapc5(Snpap19; XM_284503.1)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Snapc5は、pol IIおよびpol IIIによって転写されるsnRNAのプロモーターであるPSEに結合し、転写を制御するSNAP複合体のサブユニットの一つである(Henry, R. W.; Mittal, V.; Ma, B.; Kobayashi, R.; Hernandez, N. Genes Dev. 12: 2664-2672, 1998. PubMed ID : 9732265)。本蛋白質のアミノ酸配列はロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第8の群(図1Bの配列番号85～86)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のC130020M04Rik(BC026483)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。C130020M04Rikは、蛋白質のフレームは予想されているが、その機能は未知である遺伝子である。アノテーションは、転写制御因子となっている。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第9の群(図1Bの配列番号87～89)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のFLJ3200(XM_342896.1)遺伝

子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。FLJ3200は、蛋白質のフレームは予想されているが、その機能は未知である遺伝子である。Rattus norvegicus類似の配列を有する蛋白質である。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第10の群(図1Bの配列番号90～91)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のRit2(NM_009065.2)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Rit2は、Ras like proteinでRasファミリーの蛋白質であるが、Ras蛋白質の膜の足場として知られている典型的なC末端に存在するCAAXボックスを持っていない。Rasは、App遺伝子のプロモーターを活性化することが知られている(Ruiz-Leon, Y. and Pascual, A., (2001) 2, 278-285)。さらに、RasはRhoとともにApp蛋白質の分泌過程の制御に関わっていることが報告されている(Maillet, M et al., (2003) Nat. Cell Biol. 5, 633-639)。Rhoファミリーは、小さなGTP結合蛋白質で、細胞骨格、転写、発生、形質転換などに関わり、Rho遺伝子がAP1の活性を促し、T細胞の活性化に関わる転写因子を制御している可能性が報告されている(JIN-HONG CHANG, et. al., Mol Cell Biol (1998) 18, 4986-4993)。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第11の群(図1Bの配列番号92～93)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のcytochrome b(AF540912.1)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。登録されているcytochrome b遺伝子は全長クローンされていない。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含む。

本発明の蛋白質の第12の群(図1Bの配列番号94～95)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のapolipoprotein E (ApoE; NM_009696.2)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質

のいずれでもない。Apoeは、アルツハイマーのリスクファクター遺伝子として知られており、APPと相互作用する(David M. Holtzman, et. al., PNAS (2000) 97, 2892-97)。Apoe遺伝子はAP1サイトを持ち、AP1の下流遺伝子である。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第13の群(図1Bの配列番号96~97)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のamyloid beta (A4) precursor protein (App; BC005499.1)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Appは、アルツハイマーのリスクファクター遺伝子として知られており、Apoeと相互作用する(David M. Holtzman, et. al., PNAS (2000) 97, 2892-97)。App遺伝子は、Apoe遺伝子と同様に、AP1サイトを持ち、AP1の下流遺伝子である。実際、記憶の形成時の一連の反応の最初のカスケードは、Fos/Junの発現であり、続いて記憶形成の初期に、App/Apoeが発現することが報告されている(Steven P.R. Rose, Learning & Memory (2000) 7, 1-17)。さらに、Appは翻訳時に、Apoeのシャペロン機能によって、共翻訳により折り畳まれること(cotranslational folding)が最近報告された(Silke Hab, et al., (J. Biol. Chem., 273, 13892-13897 (1998))。このことは、IVVの共翻訳時に、App/Apoe複合体を形成したものが、さらにベイトFosと複合体を形成し検出されてきた例と云える。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第14の群(図1Bの配列番号98~99)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のDnaja2(HSP40; BC003420)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Dnaja2は、ヒートショック蛋白質であり、ヒートショックを与えた際にFos、Junとともに発現量が増加することが知られている(Kato N, et. al., Cancer Science (2000) 97, 644-649)。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第15の群(図1Bの配列番号100~101)は、c-Fosと相互作用する機能が新規の蛋白質である。この蛋白質は、既存のFip-c10(KIAA1209;

XM_136911)遺伝子配列かつアミノ酸配列と相同性を有していることを特徴とする蛋白質であり、これまで、c-Fosと複合体を形成することが知られていた蛋白質のいずれでもない。Fip-c10は、蛋白質のフレームは予想されているが、その機能は未知である遺伝子である。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第16の群(図1Bの配列番号102)は、c-Fosと複合体を形成する機能もそのアミノ酸配列も新規の蛋白質(Fos interacting protein chromosome 4.1; Fip-c4)である。この蛋白質は、ゲノム配列のこれまで全く蛋白質のフレームが予想されていない領域にコードされている。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

本発明の蛋白質の第17の群(図1Bの配列番号103)は、c-Fosと複合体を形成する機能もそのアミノ酸配列も新規の蛋白質(Fos interacting protein chromosome 18; Fip-c18)である。この蛋白質は、ゲノム配列のこれまで全く蛋白質のフレームが予想されていない領域にコードされている。本蛋白質のアミノ酸配列は、ロイシンジッパーを含まない。

以下、本発明の蛋白質についてさらに説明する。

本発明の蛋白質のうち、配列番号1~22及び47~103のいずれかのアミノ酸配列を有する蛋白質は、後述の実施例に記載したように、c-Fos蛋白質と相互作用すること、すなわち、複合体を形成することが判明した蛋白質である。蛋白質には一般に同一の機能を有する変異体の存在が予測される。また、蛋白質のアミノ酸配列を適宜改変することによって、同一の機能を有する変異体を得ることができる。従って、配列番号1~22及び47~103のいずれかに示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有し、かつc-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質も本発明の蛋白質に包含される。また、配列番号1~22及び47~103のいずれかに示すアミノ酸配列に対して、15%以上の相同性を有し、かつc-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質も包含される。このようなアミノ酸の変化した蛋白質としては、例えば、配列番号1のアミノ酸配列を有する蛋白質に関しては、配列番号2~14のアミノ酸配列を有する蛋白質、配列番号15のアミノ酸配列を有する蛋白質に関しては、配列番号16~19のアミノ

酸配列を有する蛋白質、配列番号 20 のアミノ酸配列を有する蛋白質に関しては、配列番号 21～22 のアミノ酸配列を有する蛋白質がそれぞれ挙げられる。

蛋白質のアミノ酸配列の改変は、部位特異的変異誘発法などの周知の手段により蛋白質をコードする DNA の塩基配列を改変し、塩基配列が改変された DNA を発現させることによって行うことができる。このような改変された蛋白質のうち、c-Fos 蛋白質と相互作用するものが本発明の蛋白質に含まれる。c-Fos 蛋白質との相互作用は、公知の相互作用の測定法により測定することでき、例として、後記実施例に記載されたような複合体の形成を検出する方法が挙げられる。

本発明の蛋白質は、他の蛋白質と融合させることにより、融合蛋白質とされてもよい。

本発明の核酸は、本発明の蛋白質をコードする核酸である。核酸は通常には RNA 又は DNA である。本発明の核酸としては、配列番号 23～40 及び 104～167 のいずれかの塩基配列を有する核酸が挙げられる。この核酸は後述の実施例において、塩基配列が決定された核酸である。遺伝子には、同一の産物をコードするが塩基配列の異なる遺伝子や、同一の機能を有する変異体をコードする遺伝子の存在が予測される。また、塩基配列の改変により、同一の産物や同一の機能を有する変異体をコードする遺伝子を得ることができる。従って、本発明の核酸には、配列番号 23～40 及び 104～167 のいずれかの塩基配列に類似する塩基配列を有し、かつ c-Fos 蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸も包含される。類似の塩基配列を有する核酸としては、配列番号 23～40 及び 104～167 のいずれかの塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とストリンジェントな条件でハイブリダイズする核酸、又は、配列番号 23～40 及び 104～167 のいずれかの塩基配列と相同性が 16% 以上の塩基配列を有する核酸が挙げられる。

ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば 42℃ で DIG Easy Hyb (ロシェ・ダイアグノスティックス株式会社) におけるハイブリダイゼーション、次いで 60℃ で 15 分 0.1×SSC/0.1%SDS 中での洗浄である。塩基配列の相同性は、比較する配列間でアラインメントを行い一致した塩基数を算出し、比較対象となる配列の鎖長に対する一致した塩基数の割合である。また、アミノ酸配列の相同性は、比較する配列間でアラインメントを行い一致したアミノ酸数を算出し、比較対象となる配

列の鎖長に対する一致したアミノ酸数の割合である。

DNAがc-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードすることは、そのDNAから蛋白質を発現させ、発現した蛋白質がc-Fos蛋白質と相互作用することを上述の方法により確認することにより容易に確認できる。

本発明の核酸は、明らかにされた塩基配列に基づき常法により得ることができる。例えば、化学合成法により合成してもよいし、適宜設定されたプライマーを用いて、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質を発現している細胞や組織から調製されたmRNAからRT-PCR法により得ても良い。

< 2 > 本発明の蛋白質等の用途

本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列による新たな機能(ここではc-Fosと結合できる機能)を利用して、遺伝子治療などによりc-Fosの転写機能や遺伝子複製機能などをブロックする阻害剤として応用することができる。その根拠は、本発明の蛋白質の遺伝子は、スクリーニングを複数回繰り返すことにより競争過程を経て検出されてきていることに起因する。この方法で検出された遺伝子群は、ある個数分布を描き、競争力が強い遺伝子ほど多く検出されることになる。このことは、この方法で検出されるクローン数が多いほど競争力が強く、ブロック剤・阻害剤として有効に働くことを示している。

本発明の蛋白質とそれをコードする遺伝子および配列の用途として、in vitroでの応用としては、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列による新たな機能を利用して、たとえば、無細胞蛋白質合成系を利用した進化分子工学又は、ゲノム機能解析へ応用できる。この場合に、対応付け分子の共翻訳スクリーニング/セクションを用いた解析は非常に有効である。なぜなら、共翻訳スクリーニング/セクション法によって、ベイト蛋白質と直接又は間接的に相互作用のある蛋白質を網羅的に検出することが可能となったからである。さらに、IVV間又はIVVとC末端ラベル化蛋白質との相互作用の解析などにおいて、「標的分子(ベイト蛋白質)」としても利用出来る。さらに、一般的な相互作用の解析の方法としては、例えば、マイクロアレイ、蛍光相関分光法(FCS/FCCS)、蛍光イメージングアナライズ法、蛍光共鳴エネルギー移動法、エバネッセント場分子イメージング法、蛍光偏光解消法、表

面プラズモン共鳴法、又は、固相酵素免疫検定法などが挙げられる。無細胞蛋白質合成系の具体例としては、小麦胚芽抽出液、ウサギ網状赤血球抽出液、大腸菌S30抽出液等が挙げられる。これらの無細胞蛋白質合成系の中に、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列の翻訳テンプレートを加え、C末端ラベル化の場合は、同時に1~100 μ Mの修飾剤を加え、25~37°Cで1~数時間保温することによってC末端修飾蛋白質が合成される。対応付けの場合は、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列の対応付け分子のテンプレートを加えて、25~37°Cで1~数時間保温するだけで対応付け分子が合成される。

また、*in vivo*での応用としては、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列による新たな機能を利用して、たとえば、無細胞蛋白質合成系で合成された、分離用修飾及び検出用標識された蛋白質（両修飾蛋白質）は、そのまま次の精製プロセス又は検出プロセス、又は直接細胞への導入に供することができる。細胞発現系の具体例としては、大腸菌、枯草菌、好熱菌、酵母等の細菌から、昆虫細胞、哺乳類等の培養細胞、さらに線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウス等に至るまでいかなる細胞でもよい。これらの細胞の中に、上記C末端ラベル化又は対応付けされた両修飾蛋白質を直接導入し、目的の蛋白質をブロックすることができる。又は、上記本発明の蛋白質の遺伝子や核酸配列を導入し、アンチセンス配列やRNAi配列として遺伝子や核酸配列をそのまま利用して目的の核酸配列の発現をブロックすることも可能であるし、細胞内で発現させて蛋白質や対応付け分子として相互作用のある蛋白質をブロックすることにも利用できる。蛋白質として利用する場合は、C末端ラベル化法では、同時に1~100 μ MのC末端ラベル化修飾剤を電気穿孔法、マイクロインジェクション法等により細胞の中に導入し、細胞の至適生育温度で数時間保温することによって修飾蛋白質が合成される。対応付けの場合は、上記本発明の蛋白質の遺伝子や核酸配列をもつ対応付け分子のテンプレートを導入し、細胞の至適生育温度で数時間保温することによって対応付け分子が合成される。合成された両修飾蛋白質は、細胞を破碎することによって回収し次の精製プロセス又は検出プロセスに供することができる。また、そのまま細胞の中で検出プロセスに供することも可能である。

以下、本発明の蛋白質等の用途についてさらに説明する。

本発明検出方法は、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出において、ベイトとして本発明の蛋白質を用いるものである。

好ましくは、ベイト及びプレイに特定の様式で分離用修飾及び検出用標識を行い、そして、無細胞翻訳系においてベイトの存在下で、プレイを翻訳により生成させることによりベイトとプレイとを接触させることを主な特徴とするものである。本明細書においては、無細胞翻訳系においてベイトの存在下で、プレイを翻訳により生成させることによりベイトとプレイとを接触させることを「無細胞共翻訳」ともいう。

本明細書において、ベイト及びプレイの用語は、物質間の相互作用の解析の技術分野で通常に用いられる意味を有する。すなわち、既知の物質である蛋白質や核酸などをベイト(おとり)と呼び、それと相互作用する物質である蛋白質や核酸などをプレイ(獲物)と呼ぶ。本発明では、プレイは蛋白質であることが好ましい。

ここで、ベイトとしては、本発明の蛋白質、又は、本発明の蛋白質を含む限り、あらゆる蛋白質(ペプチドを含む)、核酸、抗体、ホルモンなどのリガンド、金属などの任意のものから構成される複合体が挙げられ、天然のものでも人工のものでも構わない。ベイトとしての分子量の制限などは特にない。たとえば蛋白質であれば、機能ドメイン又は機能ドメインを含む完全長蛋白質などが挙げられる。プレイライブラリーを用いる場合は、完全長蛋白質とすることでより網羅的検出が可能となる。

また、プレイとしては、好ましくは、蛋白質が用いられる。プレイとしての分子量の制限などは特にない。

本発明検出方法は、好ましくは、上述のように、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出において、ベイト及びプレイに特定の様式で検出用標識及び分離用修飾を行い、そして、無細胞共翻訳を行うことを主な特徴とするものである。従って、本発明検出方法の好ましい構成は、ベイト及びプレイに特定の様式で検出用標識及び分離用修飾を行い、そして、無細胞共翻訳を行うことを除いて、ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の通常の検出方法と同様でよい。

ベイト及びプレイの分離用修飾及び検出用標識は、複合体の検出に適合したもの

が適宜選択されるが、無細胞共翻訳において、ベイトとプレイとが共に検出用標識で標識されたり、分離用修飾を受けたりしないように行われる必要がある。そのため、プレイは、検出用標識として使用できる蛋白質との融合蛋白質とされるか、又は、対応付け分子とされ、それに応じて、ベイトは分離用修飾を有するものとされる。

プレイが融合蛋白質とされる場合には、ベイトは分離用修飾を有するようにする。ベイトが蛋白質である場合には、ベイトは、分離用修飾として使用できる蛋白質との融合蛋白質として、無細胞翻訳系において、ベイトを含む融合蛋白質をコードする mRNA の翻訳が行われることにより無細胞翻訳系に存在させることが好ましい。

ベイトが蛋白質の場合の分離用修飾の例としては、蛋白質として、GST蛋白質や TAP 法などに用いられている CBP (カルモジュリンビーズとの親和性により分離可能) や プロテイン A (IgG-プロテイン A 親和性により分離可能)、親和性タグとして、各種の抗体タグなどとの融合蛋白質とすることが挙げられる。ベイト自体が分離用修飾として使用できる性質を有する場合には、ベイトをそのまま、分離用修飾を有するベイトとして使用できる。プレイの検出用修飾としては、GFP (green fluorescent protein) などの蛍光蛋白質との融合蛋白質とすることが挙げられる。

上記の融合蛋白質をコードする mRNA の調製及びこの mRNA の無細胞翻訳系での翻訳は通常の方法に従って行うことができる。mRNA は、無細胞転写翻訳系において、DNA の転写により生成するものであってもよい。

プレイが対応付け分子とされる場合には、ベイトには任意の分離用修飾を施すことができる。ベイトが蛋白質である場合には、上述の分離用修飾の例が挙げられる他、ベイトが核酸やドラッグなどの場合の分離用修飾の例としては、ストレプトアビジンやアビジンと相互作用のあるビオチンなどを利用することが挙げられる。ベイト自体が分離用修飾として使用できる性質を有する場合には、ベイトをそのまま、分離用修飾を有するベイトとして使用できる。

対応付け分子とは、表現型と遺伝子型と対応付ける分子を意味する。対応付け分子は、通常には、遺伝子型を反映する塩基配列を有する核酸を含む遺伝子型分子と、表現形の発現に関与する蛋白質を含む表現型分子とが結合してなる分子である。こ

の蛋白質としてプレイを用いることによりプレイを対応付け分子とすることができる。このような対応付け分子は、無細胞翻訳系において、プレイをコードするmRNAの翻訳を、翻訳されたプレイが該mRNAと会合するように行うこと、又は、無細胞転写翻訳系において、プレイをコードするDNAの転写及び翻訳を、翻訳されたプレイが該DNAと会合するように行うことにより形成することができる。従って、この製造の際に、ベイトを存在させることにより、無細胞共翻訳を行うことができる。すなわち、下記(1)又は(2)により無細胞共翻訳を行うことができる。

(1) 無細胞翻訳系において、前記ベイトの存在下で、前記プレイをコードするmRNAの翻訳を、翻訳されたプレイが該mRNAと会合するように行うことにより、無細胞翻訳系にプレイを生成させて、ベイトとプレイとを接触させる。

(2) 無細胞転写翻訳系において、前記ベイトの存在下で、前記プレイをコードするDNAの転写及び翻訳を、翻訳されたプレイが該DNAと会合するように行うことにより、無細胞転写翻訳系にプレイを生成させて、ベイトとプレイとを接触させる。

以下、上記(1)及び(2)の態様について説明する。

(1)の態様では、mRNAが、その3'末端に結合したスパーサー領域と、スパーサー領域に結合した、ペプチド転移反応によってペプチドと結合し得る基を含むペプチドアクセプター領域とを有することにより、翻訳されたプレイが該mRNAと会合することが好ましい。このような対応付け分子を用いる相互作用の検出方法としては、in vitroウイルス方法が挙げられる。

mRNAは、好ましくは、転写プロモーター及び翻訳エンハンサーを含む5'非翻訳領域と、5'非翻訳領域の3'側に結合した、プレイをコードするORF領域と、ORF領域の3'側に結合した、ポリA配列を含む3'末端領域を含む核酸である。好ましくは、ポリA配列の5'側に、SNNS (SはG又はC)配列を含む発現増幅配列(例えば制限酵素XhoIが認識する配列)が更に含まれる。5'末端にCap構造があってもなくても良い。

ポリA配列は、少なくとも2残基以上のdA及び/又はrAの混合又は単一のポリA連続鎖であり、好ましくは、3残基以上、より好ましくは6以上、さらに好ましくは

8残基以上のポリA連続鎖である。

翻訳効率に影響する要素としては、転写プロモーターと翻訳エンハンサーからなる5' UTR、及び、ポリA配列を含む3'末端領域の組み合わせがある。3'末端領域のポリA配列の効果は通常には10残基以下で発揮される。5' UTRの転写プロモーターはT7/T3又はSP6などが利用でき、特に制限はない。好ましくはSP6であり、特に、翻訳のエンハンサー配列としてオメガ配列やオメガ配列の一部を含む配列を利用する場合はSP6を用いることが特に好ましい。翻訳エンハンサーは好ましくはオメガ配列の一部であり、オメガ配列の一部としては、TMVのオメガ配列の一部(029; Gallie D.R., Walbot V. (1992) *Nucleic Acids Res.*, vol. 20, 4631-4638、および、WO 02/48347の図3参照)を含んだものが好ましい。

また、翻訳効率に関し、3'末端領域においては、XhoI配列とポリA配列の組み合わせが好ましい。さらに、ORF領域の下流部分、すなわちXhoI配列の上流に親和性タグがついたものとポリA配列の組み合わせが好ましい。親和性タグ配列としては、抗原抗体反応など、蛋白質を検出できるいかなる手段を用いるための配列であればよく、制限はない。好ましくは、抗原抗体反応によるアフィニティー分離分析用タグであるFlag-tag配列又はHis-tag配列である。ポリA配列効果としては、Flag-tag等の親和性タグにXhoI配列がついたものとそこへさらにポリA配列がついたものの翻訳効率が上昇する。ここで、His-tagについては、XhoI配列のない構成でも十分な翻訳効率を示し、有効である。

上記の翻訳効率に関し効果のある構成は、対応付け効率にも有効である。

5' UTRをSP6+029とし、3'末端領域を、たとえば、Flag+XhoI+A_n(n=8)又はHis+A_n(n=8)とすることで、各長さは、5' UTRで約49bp、3'末端領域で約38bp又は約26bpであり、PCRのプライマーにアダプター領域として組み込める長さである。このため、あらゆるベクターやプラスミドやcDNAライブラリーからPCRによって、5' UTRと3'末端領域をもったコード領域を簡単に作成できる。コード領域において、翻訳はORF領域を超えてされてもよい。すなわち、ORF領域の末端に終止コドンがなくてもよい。

ペプチドアクセプター領域は、ペプチドのC末端に結合できるものであれば特に限定されないが、例えば、ビユーロマイシン、3'-N-アミノアシルビユーロマイシ

ンアミノヌクレオシド (3'-N-Aminoacylpuromycin aminonucleoside, PANS-アミノ酸)、例えばアミノ酸部がグリシンのPANS-Gly、バリンのPANS-Val、アラニンのPANS-Ala、その他、全アミノ酸に対応するPANS-全アミノ酸が利用できる。また、化学結合として3'-アミノアデノシンのアミノ基とアミノ酸のカルボキシル基が脱水縮合した結果形成されたアミド結合でつながった3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシド (3'-Aminoacyladenine aminonucleoside, AANS-アミノ酸)、例えばアミノ酸部がグリシンのAANS-Gly、バリンのAANS-Val、アラニンのAANS-Ala、その他、全アミノ酸に対応するAANS-全アミノ酸が利用できる。また、ヌクレオシド又はヌクレオシドとアミノ酸のエステル結合したものなども利用できる。その他、ヌクレオシド又はヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質と、アミノ酸又はアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質を化学的に結合可能な結合様式のものなら全て利用することができる。

ペプチドアクセプター領域は、好ましくは、ピューロマイシンもしくはその誘導体、又は、ピューロマイシンもしくはその誘導体と1残基もしくは2残基のデオキシリボヌクレオチドもしくはリボヌクレオチドからなることが好ましい。ここで、誘導体とは蛋白質翻訳系においてペプチドのC末端に結合できる誘導体を意味する。ピューロマイシン誘導体は、ピューロマイシン構造を完全に有しているものに限られず、ピューロマイシン構造の一部が欠落しているものも包含する。ピューロマイシン誘導体の具体例としては、PANS-アミノ酸、AANS-アミノ酸などが挙げられる。

ペプチドアクセプター領域は、ピューロマイシンのみの構成でもかまわないが、5'側に1残基以上のDNA及び/又はRNAからなる塩基配列を持つことが好ましい。配列としては、dC-ピューロマイシン、rC-ピューロマイシンなど、より好ましくはdCdC-ピューロマイシン、rCrC-ピューロマイシン、rCdC-ピューロマイシン、dCrC-ピューロマイシンなどの配列で、アミノアシル-tRNAの3'末端を模倣したCCA配列 (Philipps, G.R. (1969) Nature 223, 374-377)が適当である。塩基の種類としては、C>(U又はT)>G>Aの順で好ましい。

スパーサー領域は、好ましくは、ポリエチレングリコールを主成分としたPEG領域である。スパーサー領域は、通常には、PEG領域の他に、核酸の3'末端に結合で

きるドナー領域を含む。

核酸の3'末端に結合できるドナー領域は、通常、1以上のヌクレオチドからなる。ヌクレオチドの数は、通常には1～15、好ましくは1～2である。ヌクレオチドはリボヌクレオチドでもデオキシリボヌクレオチドでもよい。ドナー領域は修飾物質を有していてもよい。

ドナー領域の5'末端の配列は、プレイをコードするコード領域とのライゲーション効率を左右する。コード領域とスペーサー領域をライゲーションさせるためには、少なくとも1残基以上を含むことが必要であり、ポリA配列をもつアクセプターに対しては、少なくとも1残基のdC(デオキシシチジル酸)又は2残基のdCdC(ジデオキシシチジル酸)が好ましい。塩基の種類としては、C>(U又はT)>G>Aの順で好ましい。

PEG領域はポリエチレングリコールを主成分とするものである。ここで、主成分とするとは、PEG領域に含まれるヌクレオチドの数の合計が20 bp以下、又は、ポリエチレングリコールの平均分子量が400以上であることを意味する。好ましくは、ヌクレオチドの合計の数が10 bp以下、又は、ポリエチレングリコールの平均分子量が1000以上であることを意味する。

PEG領域のポリエチレングリコールの平均分子量は、通常には、400～30,000、好ましくは1,000～10,000、より好ましくは2,000～8,000である。ここで、ポリエチレングリコールの分子量が約400より低いと、このスペーサー領域を含む遺伝子型分子を対応付け翻訳したときに、対応付け翻訳の後処理が必要となることがあるが(Liu, R., Barrick, E., Szostak, J.W., Roberts, R.W. (2000) *Methods in Enzymology*, vol. 318, 268-293)、分子量1000以上、より好ましくは2000以上のPEGを用いると、対応付け翻訳のみで高効率の対応付けができるため、翻訳の後処理が必要なくなる。また、ポリエチレングリコールの分子量が増えると、遺伝子型分子の安定性が増す傾向があり、特に分子量1000以上で良好であり、分子量400以下ではDNAスペーサーと性質がそれほどかわらず不安定となることがある。

ポリエチレングリコールを主成分とするスペーサー領域を有することによって、対応付け分子がウサギ網状赤血球のみならず小麦胚芽の無細胞翻訳系でも形成可能となり、両翻訳系での遺伝子型分子の安定性が飛躍的に向上し、翻訳後の処理を施すことが不要となる。

(2)の態様では、DNAが、蛋白質とストレプトアビジン又はアビジンとの融合蛋白質をコードし、DNAがビオチンにより標識され、DNA一分子がエマルジョンの一区画に含まれる状態で転写及び翻訳が行われることにより、翻訳されたプレイが該DNAと会合することが好ましい。このような対応付け分子を用いる相互作用の検出方法としては、STABLE法が挙げられる。

エマルジョンは、通常には、2種の界面活性剤及びミネラルオイルと、無細胞転写翻訳系の反応液を混合して形成されるW/O型のエマルジョンである。W/O型のエマルジョンを形成するには、通常には、界面活性剤のHLB(hydrophile-lipophile balance)値が3.5~6である必要がある。2種の界面活性剤を混合した場合のHLB値は、個々の界面活性剤のHLB値から簡単な計算式で求められる。例えば、Span 85(HLB=1.8及びTween 80(HLB=15.0)を、それぞれ40.2 μ l及び9.8 μ lの割合で混合することによりHLB=4.4となる。界面活性剤とミネラルオイルの割合は、通常1:18(容量比)である。また、反応液の割合はエマルジョン全体に対して1~50%(容量比)であり、通常は5%である。界面活性剤とミネラルオイルの混合物に、攪拌しながら、低温で、反応液をいくつかに分けて添加し、混合することによりエマルジョンを形成することができる。転写及び翻訳の反応は、エマルジョンの温度を上げることにより、開始させることができる。

プレイをコードするDNAの調製及びこのDNAの無細胞転写翻訳系での転写及び翻訳は通常の方法に従って行うことができる。

上述のように、ベイト及びプレイに特定の様式で検出用標識及び分離用修飾を行うことにより、無細胞共翻訳により形成された複合体を特異的に検出することができる。

ベイトとプレイの無細胞共翻訳において、無細胞共翻訳を行う無細胞翻訳系(無細胞転写翻訳系を含む)については、大腸菌*E. coli*、ウサギ網状赤血球、小麦胚芽の系などいずれでも構わない。in vitroウイルス法では、対応付け分子の形成は、大腸菌*E. coli*ではかなり不安定であるが、ウサギ網状赤血球の系(Nemoto N, Miyamoto-Sato E, Yanagawa H. (1997) FEBS Lett. 414, 405; Roberts R.W, Szostak J.W. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 12297)では安定であることが確認されており、さらに小麦胚芽の系(特開2002-176987)ではより安定であることが確

認されている。STABLE法では、大腸菌*E. coli*、ウサギ網状赤血球、小麦胚芽の系などいずれでも構わない。

無細胞共翻訳における翻訳又は転写及び翻訳の条件は、用いる無細胞翻訳系に応じて適宜選択される。

無細胞翻訳系に添加するベイトとプレイのテンプレートは、無細胞翻訳系が転写も生じる無細胞転写翻訳系であれば、RNA又はDNAのどちらでも構わない。

以下、ベイトとして用いるのに好ましい翻訳テンプレートの例について説明する。

本態様の共翻訳スクリーニングにおけるベイトとして、図8に示すように、蛋白質に翻訳される情報を持つコード部とPEGスパーサー部からなることを特徴とする翻訳テンプレートを利用する。コード部は、蛋白質に翻訳される情報であり、どのような配列でも良いが、好ましくは、コード部の3'末端領域にアクセプター(A配列)を持つ、あるいは、コード部の3'末端領域にアクセプター(A配列)を持ち、かつA配列の5'上流に翻訳増幅配列(X配列)を持つことを特徴とする。コード部のA配列として、短いポリA配列を含む。短いポリA配列とは、通常には2～10塩基のAからなる配列である。X配列として、(C又はG)NN(C又はG)配列を有する配列、たとえば、XhoI配列を有することを特徴とする。PEGスパーサー部は、ポリエチレングリコールを主成分としたPEG領域、コード部と連結するためのドナー領域、および3'末端にCCA領域を持つ。PEGスパーサー部は、ドナー領域のみ、CCA領域のみでもかまわないが、好ましくは、ポリエチレングリコールを主成分としたPEG領域を含む構成をとる。CCA領域は、該翻訳テンプレートによって翻訳された蛋白質と、ペプチド転移反応によって結合する機能を有しないことを特徴とする。PEG領域のポリエチレングリコールの分子量は、500以上であることを特徴とする。また、ドナー領域及び/又はCCA領域において、少なくとも1つの機能付与ユニット(F)を含むことを特徴とする。機能付与ユニット(F1及び/又はF2)が、該翻訳テンプレート及び/又は該翻訳テンプレートから翻訳された蛋白質を固定化又は蛍光ラベル化することを特徴とする。固定化物質としてビオチンなどが考えられ、蛍光性物質として、フルオレセイン、Cy5、又はローダミンググリーン(RhG)などが考えられる。これらのコード部や翻訳テンプレート、およびそのライブラリー、さらに、リボソーム上で翻訳された蛋白質やそのライブラリーに関するものである。

ペイトの翻訳テンプレート(図8のA)は、コード分子(図8のB)に由来するコード部とPEGスパーサー分子(図8のC)に由来するPEGスパーサー部からなる。本態様では、基本的にはコード部の配列によらず、コード部にPEGスパーサー部を連結(ライゲーション)することでその安定性が向上して翻訳効率を向上出来る。しかしながら、さらにコード部の構成やPEGスパーサー部の種類によって、その翻訳効率をより向上させることが可能である。以下にその詳細を記載する。

本態様のコード部(図8のB)は、5'末端領域、ORF領域、3'末端領域からなり、5'末端にCap構造があってもなくても良い。また、コード部の配列には特に制限はなく、あらゆるベクターやプラスミドに組み込まれたものとしての利用が考えられる。また、コード部の3'末端領域は、A配列としてポリA_{x8}配列、あるいはX配列としてXhoI配列や4塩基以上でSNNS(SはG又はC)の配列を持つもの、およびA配列とX配列の組み合わせとしてのXA配列がある。A配列、X配列、又はXA配列の上流に親和性タグ配列としてFlag-tag配列、からなる構成が考えられる。ここで、親和性タグ配列としてはHA-tagやIgGのプロテインA(zドメイン)などの抗原抗体反応を利用したものやHis-tagなど、蛋白質を検出又は精製できるいかなる手段を用いるための配列でもかまわない。ここで、翻訳効率に影響する範囲としては、XA配列の組み合わせが重要であり、X配列のなかで、最初の4塩基が重要であり、SNNSの配列を持つものが好ましい。また、5'末端領域は、転写プロモーターと翻訳エンハンサーからなり、転写プロモーターはT7/T3又はSP6などが利用でき、特に制限はないが、小麦の無細胞翻訳系では、翻訳のエンハンサー配列としてオメガ配列やオメガ配列の一部を含む配列を利用することが好ましく、プロモーターとしては、SP6を用いることが好ましい。翻訳エンハンサーのオメガ配列の一部(029)は、TMVのオメガ配列の一部を含んだものである(Gallie D.R., Walbot V. (1992) *Nucleic Acids Res.*, vol. 20, 4631-4638、および、WO 02/48347の図3参照)。コード部のORF領域については、DNA及び/又はRNAからなるいかなる配列でもよい。遺伝子配列、エキソン配列、イントロン配列、ランダム配列、又は、いかなる自然界の配列、人為的配列が可能であり、配列の制限はない。

本態様のPEGスパーサー分子(図8のC)は、CCA領域、PEG領域、ドナー領域からなる。最低限必要な構成は、ドナー領域である。翻訳効率に影響する範囲としては、

ドナー領域のみならずPEG領域を持つものが好ましく、さらにアミノ酸との結合能力のないピューロマイシンを持つことが好ましい。PEG領域のポリエチレングリコールの分子量の範囲は、400~30,000で、好ましくは1,000~10,000、より好ましくは2,000~6,000である。また、CCA領域にはピューロマイシンを含む構成と含まない構成が可能であり、ピューロマイシンについては、ピューロマイシン(Puromycin)、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシド (3'-N-Aminoacylpuromycin aminonucleoside, PANS-アミノ酸)、例えばアミノ酸部がグリシンのPANS-Gly、バリンのPANS-Val、アラニンのPANS-Ala、その他、全アミノ酸に対応するPANS-全アミノ酸が利用できる。また、化学結合として3'-アミノアデノシンのアミノ基とアミノ酸のカルボキシル基が脱水縮合した結果形成されたアミド結合でつながった3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシド (3'-Aminoacyladenine aminonucleoside, AANS-アミノ酸)、例えばアミノ酸部がグリシンのAANS-Gly、バリンのAANS-Val、アラニンのAANS-Ala、その他、全アミノ酸に対応するAANS-全アミノ酸が利用できる。また、ヌクレオシド又はヌクレオシドとアミノ酸のエステル結合したものなども利用できる。その他、ヌクレオシド又はヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質と、アミノ酸又はアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質を化学的に結合可能な結合様式のものなら全て利用することができる。本翻訳テンプレートでは、以上のピューロマイシン誘導体のアミノ基がアミノ酸と結合する能力を欠いたあらゆる物質、およびピューロマイシンを欠いたCCA領域も考えられるが、リボソーム上で蛋白質と結合不能なピューロマイシンを含むことで、より翻訳効率を高められる。その理由は定かではないが、蛋白質と結合不能なピューロマイシンがリボソームを刺激することでターンオーバーが促進される可能性がある。CCA領域(CCA)の5'側に1残基以上のDNA及び/又はRNAからなる塩基配列を持つことが好ましい。塩基の種類としては、C>(U又はT)>G>Aの順で好ましい。配列としては、dC-ピューロマイシン、rC-ピューロマイシンなど、より好ましくはdCdC-ピューロマイシン、rCrC-ピューロマイシン、rCdC-ピューロマイシン、dCrC-ピューロマイシンなどの配列で、アミノアシル-tRNAの3'末端を模倣したCCA配列(Philipps G.R. (1969) Nature 223, 374-377)が適当である。本発明の一態様では、これらのピューロマイシンが何らかの方法でアミノ酸と

結合不可能となっている。

本態様のPEGスペーサー一部は修飾物質(F 1 及び/又はF 2)を有する構成が可能である。このことによって、翻訳テンプレートを回収、精製による再利用、又は固定化などのためのタグとして利用することが出来る。少なくとも1残基のDNA及び/又はRNAの塩基に修飾物質として、蛍光物質、ビオチン、又はHis-tagなど各種分離タグなどを導入したものが可能である。また、コード部の5'末端領域をSP6+029とし、3'末端領域を、たとえば、Flag+XhoI+A_n(n=8)とすることで、各長さは、5'末端領域で約60bp、3'末端領域で約40bpであり、PCRのプライマーにアダプター領域として設計可能な長さである。これによって新たな効果が生み出された。すなわち、あらゆるベクターやプラスミドやcDNAライブラリーからPCRによって、本態様の5'末端領域と3'末端領域をもったコード部を簡単に作成可能となり、このコード部に、3' UTRの代わりとして PEGスペーサー一部をライゲーションすることで、翻訳効率の高い翻訳テンプレートを得られる。

本態様のPEGスペーサー分子とコード分子のライゲーションは、その方法については、一般的なDNAリガーゼを用いるものや光反応による連結など何でもよく、特に限定されるものではない。RNAリガーゼを用いるライゲーションでは、コード部でライゲーション効率に影響を与える範囲としては3'末端領域のA配列が重要であり、少なくとも2残基以上のdA及び/又はrAの混合又は単一のポリA連続鎖であり、好ましくは、3残基以上、より好ましくは6から8残基以上のポリA連続鎖である。PEGスペーサー部のドナー領域の5'末端のDNA及び/又はRNA配列は、ライゲーション効率を左右する。コード部とPEGスペーサー部を、RNAリガーゼでライゲーションするためには、少なくとも1残基以上を含むことが必要であり、ポリA配列をもつアクセプターに対しては、少なくとも1残基のdC(デオキシシチジル酸)又は2残基のdCdC(ジデオキシシチジル酸)が好ましい。塩基の種類としては、C>(U又はT)>G>Aの順で好ましい。さらに、ライゲーション反応時に、PEG領域と同じ分子量のポリエチレングリコールを添加することが好ましい。

次に、プレイとして用いるのに好ましい翻訳テンプレートの例について説明する。

本態様の共翻訳スクリーニングにおけるプレイとして、図9に示すように、翻訳テンプレートによってC末端修飾された蛋白質(=対応付け分子)を利用する。翻訳

テンプレートは、蛋白質に翻訳される情報を持つコード部とPEGスペーサー部からなる。コード部の3'末端にA配列を有し、A配列は、短いポリA配列を含む。PEGスペーサー部は、ポリエチレングリコールを主成分としたPEG領域において、ポリエチレングリコールの分子量が400以上であることを特徴とする、また、ドナー領域及び/又はCCA領域において、少なくとも1つの修飾物質(F1及び/又はF2)を含むことを特徴とする。また、CCA領域は、該翻訳テンプレートによって翻訳された蛋白質と、ペプチド転移反応によって結合する機能を有することを特徴とし、代表的にはCCA領域にビュロマイシンを有する。また、修飾物質(F1及び/又はF2)が、該翻訳テンプレート及び/又は該翻訳テンプレートから翻訳された蛋白質を固定化又は蛍光ラベル化することを特徴とする。固定化物質としてビオチンなどが考えられ、蛍光性物質として、フルオレセイン、Cy5、又はローダミンググリーン(RhG)などが考えられる。これら、コード部および翻訳テンプレート、およびそのライブラリーが、リボソーム上で翻訳されることにより合成される蛋白質(=対応付け分子)および蛋白質(=対応付け分子)のライブラリーに関するものである。

プレイは、翻訳テンプレートを用いた翻訳によって合成された、翻訳テンプレートでC末端修飾された蛋白質(図9のA; 対応付け分子)であり、翻訳テンプレート(図9のB)と、PEGによってC末端修飾された蛋白質(図9のC)の構成に特徴を持つ。以下詳細に記述する。

翻訳テンプレート(図9のB)のPEGスペーサー部は、ビュロマイシンがアミノ酸と連結できることを特徴とする以外は上記のベイトとして用いるのに好ましい翻訳テンプレートと同様である。また、コード部も上記のベイトとして用いるのに好ましい翻訳テンプレートと同様であるが、特に、対応付けに適した構成としては、3'末端領域をA配列にすることが重要であり、トータル蛋白の対応付けの効率が著しく向上してフリー蛋白質の量が激減する。ここでも、コード部の5'末端領域をSP6+029とし、3'末端領域を、たとえば、Flag+XhoI+A_n(n=8)とすることで、各長さは、5'末端領域で約60bp、3'末端領域で約40bpであり、PCRのプライマーにアダプター領域として設計できる長さである。これによって、あらゆるベクターやプラスミドやcDNAライブラリーからPCRによって、本態様の5'末端領域と3'末端領域をもったコード部を簡単に作成可能となり、PEGスペーサー部をライゲーションするこ

とで、対応付け効率の高い翻訳テンプレートが得られる。

本態様のPEGによってC末端修飾された蛋白質(図9のC)は、蛋白質の相互作用検出などにおいて、コード部を利用しない場合、たとえば、FCCS測定、蛍光リーダー、プロテインチップなどに応用する場合は、RNase Aなどで意図的に切断してもよい。切断することによって、コード部の妨害による蛋白質間相互作用の検出の困難性が解消出来る。また、単独の対応付け分子をプレートやビーズやスライドガラスに固定することも可能である。

無細胞共翻訳を、図10を参照して説明する。図10に示すように、ベイトの存在下でプレイがin vitroで翻訳される。図10のA及びBに示されるように、ベイトが蛋白質であって、無細胞翻訳系でプレイと同時に翻訳される場合と、ベイトが、核酸やホルモンなどであって、無細胞翻訳系に添加される場合がある。図10に示すように、プレイは融合蛋白質又は対応付け分子とされる。

複合体は、ベイトと一つのプレイが結合して形成されること(I)の他に、ベイトに結合したプレイにさらに別のプレイが結合することにより形成されること(II)もある。

本発明検出方法によれば、in vitroで複合体の形成を行うことができるので、一貫してin vitroで蛋白質間又は核酸-蛋白質間などの相互作用を検出できる。

ベイトが蛋白質である場合は、ベイトとしては、目的蛋白質との相互作用のための機能ドメインのみの蛋白質、機能ドメインを含む蛋白質、又は完全長蛋白質などが挙げられる。ここで、完全長蛋白質を用いることは、複数の機能ドメインを有することが一般に予測されるため、さらに網羅的にプレイを検出可能となることから、好ましい。完全長蛋白質は、単独で完全長の蛋白質でもよいし、完全長の蛋白質を再構成する複数のベイトの集まりでもよい。

ベイトは、図11に示したように、複合体であってもよく、これを「複合ベイト」と呼ぶ。複合体にすることによって、より非特異的な吸着を減らすことができ、かつ完全長蛋白質と同様の効果として、より網羅的にプレイを検出することが可能となる。

以上のように、無細胞共翻訳で考えられる複合体としては、単独のベイトと単独のプレイの複合体、複合ベイトとプレイの複合体、ベイトと複数のプレイの複合体、

及び、複合ペイトと複数のプレイの複合体が可能である。従って、本発明検出法により検出可能な相互作用は、ペイトとプレイとの間の直接の相互作用だけでなく、複合体を形成するための間接的な相互作用をも包含するものである。

本発明における無細胞共翻訳で最も重要なことは、蛋白質がネイティブな状態でフォールディングしており、翻訳された後の変性していない状態であり、相互作用すべきペイトとプレイ又はペイトとペイトやプレイとプレイが無細胞翻訳系に共存しており、速やかに相互作用できるということと考えられる。このことは、別々に翻訳して翻訳直後に混合して共存させるよりも、共に翻訳したものの方が優れた結果が得られたことにより支持される。すなわち、*in vitro*で翻訳された蛋白質がネイティブなフォールディング状態で、蛋白質又は核酸などと出会うことができるため、速やかに相互作用による複合体の形成が可能となったためと思われる。

従来の相互作用の検出法では、ペイトを大腸菌で大量に発現精製する必要があった。例えば、TAP法などでペイトとプレイの相互作用を細胞で発現させる場合は、最低一ヶ月の準備が必要であった。また、GST融合蛋白によるプルダウン法を採用しているmRNAディスプレイ法では、ペイトを大腸菌などで大量に発現させて精製するため、最低2～3週間かかり、大腸菌で発現しないものはペイトに出来ないなどの問題があり、さらに、プレイと相互作用させるにはプレイの50～100倍の量のペイトを添加する必要があった。無細胞共翻訳では、無細胞翻訳系において、ほぼ同量のmRNA又はDNAテンプレートを添加すればよいだけとなり、ペイトを細胞で発現させる必要は全くなくなり作業時間の大幅な短縮が行える。さらに、複合ペイトや完全長蛋白質によって、ペイトとプレイの相互作用をより強化し特異的なものとし、非特異的な結合の検出を回避することができる。また、複合ペイトによって、その第二のペイトと相互作用するより多くのプレイを網羅的に解析できる。

これまで、一貫して*in vitro*で相互作用による複合体形成とスクリーニングを実現するシステムは存在しなかったが、以上の本発明検出法によって、ペイトも含めて完全に*in vitro*で翻訳とスクリーニングを行って、蛋白質間又は蛋白質-核酸間の相互作用を非特異的な検出を回避しかつ網羅的に検出可能なシステムを構築できる。従って、本発明は、本発明検出方法を利用したスクリーニング方法も提供する。

本発明スクリーニング法は、ベイトとプレイが無細胞共翻訳を通して相互作用して複合体を形成し、複合体のスクリーニングによってベイトと相互作用するプレイを解析することを特長とする。従って、本発明スクリーニング方法は、本発明検出方法により、ベイトとプレイとの間の相互作用を検出する検出工程を含む他は、ベイトとプレイとの間の相互作用を検出する検出工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイの通常のスクリーニング方法と同様でよい。

本発明スクリーニング方法は、選択工程で選択されたプレイを調製する調製工程をさらに含み、調製されたプレイを、検出工程で使用されたベイトの代わりに又はそのベイトと共に用いて、検出工程、選択工程及び調製工程を繰り返すことが好ましい。この態様は、例えば、図12に示すように、1)プレイ及びベイトが相互作用を形成する無細胞翻訳系における無細胞共翻訳の工程、2)ベイトと相互作用しているプレイを検出するスクリーニングの工程、3)プレイを分析及び解析する工程、及び4)3)で分析及び解析されたプレイを新たな次のベイトとし、1)から繰り返す工程から構成される。1)及び2)の工程が検出工程及び選択工程に相当し、3)の工程が調製工程に相当する。すなわち、検出工程のうちの、ベイトとプレイを接触させる工程が無細胞共翻訳の工程に相当し、検出工程のうちの複合体の検出及び選択工程がスクリーニングの工程に相当する。

本発明スクリーニング法では、選択工程で選択されたプレイを再度検出工程に付してもよい。

本発明スクリーニング法では、ベイトと複数のプレイの集団であるプレイ・ライブラリーとの無細胞共翻訳を行い、スクリーニングの工程において、2つ以上のプレイが検出されてもよい。

図11に示すように、複合ベイトとプレイが共存し、相互作用によって複合ベイトとプレイの複合体を形成する場合がある。この無細胞共翻訳で、プレイ・ライブラリーの複数のプレイがベイトと共存し、相互作用によってベイトと複数のプレイの複合体を形成することによって、スクリーニングにおいて、一挙に網羅的な相互作用する複数のプレイを検出できる。また、ベイトが完全長蛋白質であることによって、完全長蛋白質は一般に相互作用の機能ドメインを複数含むので、より多くの

プレイを網羅的に検出可能となる。

さらに、図11に示すように、複合ベイトと相互作用する複数のプレイの複合体を形成することによって、複合ベイトと相互作用する複数のプレイを検出でき、また、第二のベイトがベイトとプレイの相互作用の補強剤となり、より特異的な相互作用が実現されることによって、網羅的検出における非特異的検出の回避が可能となる。in vitroウイルス法やSTABLE法など進化分子工学的手法では、プレイは対応付け分子(fusion)となる。プレイ・ライブラリーや複数のプレイを用いた場合の複合体の形成では、プレイは直接ベイトと相互作用する場合としない場合がある。

複合体のスクリーニングにより得られた複合体が対応付け分子である場合には、図12に示すように、複合体を形成するプレイをRT-PCR又はPCRにより検出し、さらに、PCR産物をプレイとして再スクリーニングする（プレイの再構築）、あるいは、PCR産物から解析したプレイを新たな次のベイトとしてスクリーニングしてもよい。ここで、PCR産物から再スクリーニングする、あるいは、PCR産物から解析したプレイを新たな次のベイトとしてスクリーニングする方法は、in vitroウイルス法やSTABLE法など進化分子工学的手法においてのみ可能であり、ブルダウン法、TAP法など蛋白質を直接解析する方法ではできない。

対応付け分子を用いた場合には、スクリーニングの後、RT-PCR又はPCRによって蛋白質プレイの遺伝子配列を知ることが出来る。図10及び11に示すように、ここでの蛋白質プレイとは、ベイトと相互作用しているプレイ又はそのプレイと相互作用しているプレイなどであり、ベイトと相互作用しているすべての複数のプレイが網羅的に解析できる。さらにプレイの再スクリーニングが必要な場合は、RT-PCR又はPCRの産物であるDNAテンプレートを転写し、同じサイクルを繰り返す。また、RT-PCR又はPCRとそれに続くシーケンスによってプレイが定まった場合は、その蛋白質プレイはベイトとして使えるようになる。はじめのベイトに対して相互作用するプレイが複数個見つければ、複合ベイトを形成することが出来るようになり、さらにより多くのプレイを検出することが出来るようになる。

無細胞共翻訳を用いると、ブルダウン法やTAP法においても一貫してin vitroで蛋白質間相互作用を検出できることになるが、TAP法では対応付け分子を形成していないので、プレイの解析において直接的に蛋白質を解析しなければならない。そ

ここで、ブルダウン法やTAP法をスクリーニングの方法としてin vitroウイルス法やSTABLE法に応用すれば、対応付け分子を形成しているので、RT-PCR又はPCRによって、相互作用するプレイの解析においてその遺伝子配列を簡単に検出することが出来る。さらに、無細胞共翻訳を用いると、in vitroウイルス法やSTABLE法において、一貫してin vitroで蛋白質間相互作用を検出できることになる。また、プレイの数が莫大な場合は、サイクルを回すことで再スクリーニングによりプレイを絞り込むことが可能である。また、解析されたプレイは、次の解析では、ベイトとして使うことができ、ベイトの数が増えれば、ベイトの複合化が進み、さらなるプレイが検出されることにつながる。このように、プレイをベイトとして次のサイクルで使用することは、対応付け分子を用いるin vitroウイルス法やSTABLE法などでのみ簡単に実現できる。しかしながら、mRNAディスプレイなどの方法では、新しいベイトのGST融合蛋白を大腸菌で大量合成と精製が必要であり、ベイトの用意に時間がかかり困難である。無細胞共翻訳によれば、その必要もなく簡単にサイクルを回すことが出来る。

無細胞共翻訳後の複合体のスクリーニングにおいて、無細胞共翻訳によって出来た複合体を壊すことなくプレイを網羅的にスクリーニングできることが好ましい。このために、親和性タグなどによってベイトに固定化の仕組みを持たせ、ベイトと相互作用するプレイを検出してもよい。その固定化の仕組みは、いかなるものでも構わない。たとえば、既存のTAP法などのように、IgG-プロテインA親和性やカルモジュリンピーズを用いた2段階のスクリーニングを行う方法、又はブルダウン法のように、ストレプトアビジン又はアビジン-ビオチン親和性、GST-tag、Flag-tag、T7-tag、His-tagなどを利用した一段階又は二段階のスクリーニングを行う方法が挙げられる。

プレイ・ライブラリーとしては、cDNAライブラリー(ランダムプライミング・ライブラリー、dTプライミング・ライブラリー)、ランダム・ライブラリー、ペプチド・ライブラリー、ホルモン・ライブラリー、抗体・ライブラリー、リガンド・ライブラリー、医薬化合物ライブラリーなどが挙げられ、いかなるライブラリーでも構わない。たとえば、プレイ・ライブラリーとしてランダムプライミング・cDNAライブラリーを用いた場合、このライブラリーには完全長プレイは望めないが、機

能ドメインを含むプレイは期待できる。このようなライブラリーは、特に、複合ペイトや完全長蛋白質との組み合わせによるスクリーニングに用いると、プレイの網羅的検出に有効となる。

ランダムプライミングライブラリーの例としては、マルチクロニングサイト(MCS)の5'側に、転写プロモーターとしてSP6のRNAポリメラーゼのプロモーター(SP6)と、翻訳エンハンサーとしてタバコモザイクウイルスのTMVオメガ配列の一部(029)とを含んだ5'非翻訳(UTR)領域を持ち、かつMCSの3'側に親和タグ配列として、抗原抗体反応によるアフィニティー分離分析用タグであるFlag-tag配列を、MCSに組み込まれた挿入配列から発現した蛋白質のC末端にFlag-tagが付加されるように含む3'末端を持つベクターのMCSに、ランダムプライミングで得られたcDNAが組み込まれたものが挙げられる。

上記の本発明検出方法は、ペイトとプレイとを接触させ複合体を形成させる工程を含んでいる。従って、この工程に準じて、ペイトとそのペイトと相互作用するプレイとの複合体を形成させる方法が提供される。

本発明形成方法は、ペイトとペイトと相互作用する蛋白質であるプレイとの複合体の形成において、ペイトとして本発明の蛋白質を用いるものであり、好ましくは、さらに、ペイト及びプレイに特定の様式で検出用標識及び分離用修飾を行い、そして、無細胞共翻訳を行うことを主な特徴とするものである。従って、本発明形成方法の好ましい構成は、ペイト及びプレイに特定の様式で検出用標識及び分離用修飾を行い、そして、無細胞共翻訳を行うことを除いて、ペイトとそのペイトと相互作用するプレイとを接触させることを含む、ペイトとプレイとの複合体の通常の形成方法と同様でよい。ペイト及びプレイの特定の様式での検出用標識及び分離用修飾ならびに無細胞共翻訳については、本発明検出方法に関し説明した通りでよい。

本発明形成方法では、相互作用が既知のペイトとプレイとの間の複合体だけでなく、ペイトと、複数のプレイからなるプレイライブラリーとを接触させることにより、ペイトとそのペイトと相互作用するプレイとを接触させる工程を行うことによって、相互作用が未知の要素を含む複合体を形成することもできる。

その他の本発明の蛋白質の利用方法としては以下のものが挙げられる。

本発明の蛋白質を用いた、蛍光相関分光法、蛍光イメージングアナライズ法、蛍

光共鳴エネルギー移動法、エバネッセント場分子イメージング法、蛍光偏光解消法、表面プラズモン共鳴法、又は、固相酵素免疫検定法により行われる蛋白質と物質の相互作用解析方法。

本発明の蛋白質を用い、該蛋白質のC末端に結合したコード部の塩基配列の増幅により蛋白質と物質の相互作用を検出する方法。

本発明の蛋白質を用い、無細胞共翻訳法や無細胞共翻訳スクリーニング法を用いることを特徴とする蛋白質と物質の相互作用を検出する方法。

本発明の蛋白質を用い、蛋白質を蛍光ラベル化及び/又は固定化することを特徴とする、蛋白質と物質の相互作用解析方法。

本発明の蛋白質を用い、*in vitro*で蛋白質又は物質の相互作用を解析する方法。

本発明の蛋白質を用い、*in vitro*で共翻訳法を利用することを特徴とする蛋白質又は物質との相互作用を解析する方法。

本発明の蛋白質を用い、*in vivo*で蛋白質又は物質との相互作用を解析する方法。

本発明の蛋白質をコードする核酸を用いた、上記の相互作用解析方法。

また、以下のものも挙げられる。

蛋白質と標的分子との間の相互作用を解析する方法であって、該蛋白質を含む、修飾剤がC末端に結合したC末端修飾蛋白質を用いることを特徴とする方法。相互作用の解析は、蛍光相関分光法、蛍光イメージングアナライズ法、蛍光共鳴エネルギー移動法、エバネッセント場分子イメージング法、蛍光偏光解消法、表面プラズモン共鳴法、又は、固相酵素免疫検定法により行うことができる。C末端修飾蛋白質を固定化してもよい。標的分子が固定されたアレイ上にC末端修飾蛋白質を添加し、該標的分子と特異的に結合した該C末端修飾蛋白質を検出してもよい。

本態様の解析方法においては、通常には、上記で得られた本発明修飾蛋白質と標的分子を、修飾物質の種類や反応系の種類などにより適宜組み合わせて接触せしめ、該本発明修飾蛋白質又は該標的分子が発する信号において両分子間の相互作用に基づいて発生される上記信号の変化を測定することにより相互作用を解析する。相互作用の解析は、例えば、蛍光相関分光法、蛍光イメージングアナライズ法、蛍光共鳴エネルギー移動法、エバネッセント場分子イメージング法、蛍光偏光解消法、表面プラズモン共鳴法、又は、固相酵素免疫検定法により行われる。これらの方法

の詳細については下記で説明する。

「標的分子」とは、本発明修飾蛋白質と相互作用する分子を意味し、具体的には蛋白質、核酸、糖鎖、低分子化合物などが挙げられ、好ましくは、蛋白質又はDNAである。

蛋白質としては、本発明修飾蛋白質と相互作用する能力を有する限り特に制限はなく、蛋白質の全長であっても結合活性部位を含む部分ペプチドでもよい。またアミノ酸配列、およびその機能が既知の蛋白質でも、未知の蛋白質でもよい。これらは、合成されたペプチド鎖、生体より精製された蛋白質、又はcDNAライブラリー等から適当な翻訳系を用いて翻訳し、精製した蛋白質等でも標的分子として用いることができる。合成されたペプチド鎖はこれに糖鎖が結合した糖蛋白質であってもよい。これらのうち好ましくはアミノ酸配列が既知の精製された蛋白質か、又はcDNAライブラリー等から適当な方法を用いて翻訳および精製された蛋白質を用いることができる。

核酸としては、本発明修飾蛋白質と相互作用する能力を有する限り、特に制限はなく、DNA又はRNAも用いることができる。また、塩基配列又は機能が既知の核酸でも、未知の核酸でもよい。好ましくは、蛋白質に結合能力を有する核酸としての機能、および塩基配列が既知のものか、又はゲノムライブラリー等から制限酵素等を用いて切断単離してきたものを用いることができる。

糖鎖としては、本発明修飾蛋白質と相互作用する能力を有する限り、特に制限はなく、その糖配列又は機能が、既知の糖鎖でも未知の糖鎖でもよい。好ましくは、既に分離解析され、糖配列又は機能が既知の糖鎖が用いられる。

低分子化合物としては、本発明修飾蛋白質と相互作用する能力を有する限り、特に制限はない。機能が未知のものでも、又は蛋白質に結合する能力が既に知られているものでも用いることができる。

これら標的分子が本発明修飾蛋白質と行う「相互作用」とは、通常は、蛋白質と標的分子間の共有結合、疎水結合、水素結合、ファンデルワールス結合、および静電力による結合のうち少なくとも1つから生じる分子間に働く力による作用を示すが、この用語は最も広義に解釈すべきであり、いかなる意味においても限定的に解釈してはならない。共有結合としては、配位結合、双極子結合を含有する。また

静電力による結合とは、静電結合の他、電気的反発も含有する。また、上記作用の結果生じる結合反応、合成反応、分解反応も相互作用に含有される。

相互作用の具体例としては、抗原と抗体間の結合および解離、蛋白質レセプターとリガンドの間の結合および解離、接着分子と相手方分子の間の結合および解離、酵素と基質の間の結合および解離、核酸とそれに結合する蛋白質の間の結合および解離、情報伝達系における蛋白質同士の間の結合と解離、糖蛋白質と蛋白質との間の結合および解離、又は糖鎖と蛋白質との間の結合および解離が挙げられる。

用いられる標的分子は、態様に応じて修飾物質により修飾して用いることができる。修飾物質は、通常、蛍光性物質などの非放射性修飾物質から選択される。蛍光物質としては、フリーの官能基（例えばカルボキシル基、水酸基、アミノ基など）を持ち、蛋白質、核酸等の上記標的物質と連結可能な種々の蛍光色素、例えばフルオレセイン系列、ローダミン系列、Cy3、Cy5、エオシン系列、NBD系列などのいかなるものであってもよい。その他、色素など修飾可能な化合物であれば、その化合物の種類、大きさは問わない。

これらの修飾物質は、標的分子と本発明修飾蛋白質との間の相互作用に基づいて発生される信号の変化の測定又は解析方法に適したものが適宜用いられる。

上記修飾物質の標的分子への結合は、それ自体既知の適当な方法を用いて行うことができる。具体的には、例えば、標的分子が蛋白質の場合、WO 02/48347に記載されたC末端を修飾する方法等を用いることができる。また標的分子が核酸の場合は、予め修飾物質を共有結合などで結合させたオリゴDNAプライマーを用いたPCRを行う方法などによって簡便に修飾することができる。

また、本発明修飾蛋白質又は本発明に用いられる標的分子は態様に応じて、固相に結合させる（即ち、固定化する）場合があるが、固相に結合させる方法としては、修飾物質を介して結合させるものと、それ以外の部分により結合させるものが挙げられる。

修飾物質を介して結合させる場合に用いられる修飾物質は、通常には、特定のポリペプチドに特異的に結合する分子（以下、「リガンド」と称することがある。）であり、固相表面には該リガンドと結合する特定のポリペプチド（以下、「アダプター蛋白質」と称することがある）を結合させる。アダプター蛋白質には、結合蛋

白質、受容体を構成する受容体蛋白質、抗体なども含まれる。

アダプター蛋白質／リガンドの組み合わせとしては、例えば、アビジンおよびストレプトアビジン等のビオチンおよびイミノビオチン結合蛋白質／ビオチン又はイミノビオチン、マルトース結合蛋白質／マルトース、G蛋白質／グアニンヌクレオチド、ポリヒスチジンペプチド／ニッケル又はコバルト等の金属イオン、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ／グルタチオン、DNA結合蛋白質／DNA、抗体／抗原分子（エпитープ）、カルモジュリン／カルモジュリン結合ペプチド、ATP結合蛋白質／ATP、又はエストラジオール受容体蛋白質／エストラジオールなどの各種受容体蛋白質／そのリガンドなどが挙げられる。

これらの中で、アダプター蛋白質／リガンドの組み合わせとしては、アビジンおよびストレプトアビジンなどのビオチンおよびイミノビオチン結合蛋白質／ビオチン又はイミノビオチン、マルトース結合蛋白質／マルトース、ポリヒスチジンペプチド／ニッケル又はコバルト等の金属イオン、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ／グルタチオン、抗体／抗原分子（エпитープ）、などが好ましく、特にストレプトアビジン／ビオチン又はイミノビオチンの組み合わせが最も好ましい。これらの結合蛋白質は、それ自体既知のものであり、該蛋白質をコードするDNAは既にクローニングされている。

アダプター蛋白質の固相表面への結合は、それ自体既知の方法を用いることができるが、具体的には、例えば、タンニン酸、ホルマリン、グルタルアルデヒド、ピルビックアルデヒド、ビス-ジアゾ化ベンジゾン、トルエン-2,4-ジイソシアネート、アミノ基、活性エステルに変換可能なカルボキシル基、又はホスホアミダイドに変換可能な水酸基又はアミノ基などを利用する方法を用いることができる。

修飾物質以外の部分により固相に結合させる場合は、通常蛋白質、核酸、糖鎖、低分子化合物を固相に結合させるのに用いられる既知の方法、具体的には例えば、タンニン酸、ホルマリン、グルタルアルデヒド、ピルビックアルデヒド、ビス-ジアゾ化ベンジゾン、トルエン-2,4-ジイソシアネート、アミノ基、活性エステルに変換可能なカルボキシル基、又はホスホアミダイドに変換可能な水酸基又はアミノ基などを利用する方法を用いることができる。

固相は、通常、蛋白質や核酸等を固定化するのに用いられるものでよく、その材

質および形状は特に限定されない。例えば、ガラス板やニトロセルロースメンブレンやナイロンメンブレンやポリビニリデンフロライド膜、又はプラスチック製のマイクロプレート等を用いることができる。

「測定」とは解析のために用いられる信号の変化を収集するための手段であり、いかなる意味においても限定的に解釈してはならない。用いられる測定法としては、例えば、蛍光相関分光法、蛍光共鳴エネルギー移動法、エバネッセント場分子イメージング法、蛍光偏光解消法、蛍光イメージングアナライズ法、表面プラズモン共鳴法、固相酵素免疫検定法など、分子間相互作用を検出できるあらゆる系が利用可能である。

この測定法は、標的分子が固定されたアレイ上に本発明修飾蛋白質を添加し、該標的分子と特異的に結合した本発明修飾蛋白質を検出することを含む方法も含む。標的分子が固定されたアレイとは、標的分子がそれらの同定が可能な配置で固定化されている固相を意味する。該標的分子と特異的に結合した本発明修飾蛋白質の検出の方法は、該標的分子と特異的に結合した本発明修飾蛋白質が検出される限り、特に限定されず、通常には、本発明修飾蛋白質を添加したアレイから、標的分子に結合しない本発明修飾蛋白質を洗浄により除去し、残った本発明修飾蛋白質を検出する方法が挙げられる。

以下、測定法の例について説明する。

(1) 蛍光相関分光法

蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) : Eigen, M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 5740-5747(1994)) は、共焦点レーザー顕微鏡等の下で、粒子の流動速度、又は拡散率、容積収縮等を測定する方法であり、本発明においては、本発明修飾蛋白質 (C末端修飾蛋白質) と標的分子間の相互作用により元の修飾分子 1 分子の並進ブラウン運動の変化を測定することにより、相互作用する分子を測定することができる。

具体的には試料粒子が励起光により励起されて、試料液容積の一部において蛍光を放射し、この放射光を測定し光子割合を得る。この値は、特定の時間に観測されている空間容積中に存在する粒子の数と共に変化する。上述した種々のパラメータは自己相関関数を使用してこの信号の変動から算出され得る。このFCSを行う為の

装置もカールツァイス (Zeiss) 社等から市販されており、本方法においてもこれらの装置を用いて解析を行うことができる。

この方法を用いて蛋白質-標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、C末端修飾蛋白質又は標的分子のいずれも溶液として供することが必要である (液相法)。標的分子は修飾の必要はない。また相互作用を調べようとするC末端修飾蛋白質より非常に分子量の小さい分子は、C末端修飾蛋白質のブラウン運動に影響を及ぼさないため本方法においてはふさわしくない。

しかし、2種類の蛍光色素を用いる蛍光相互相関分光法 (FCCS) は、1種類の蛍光色素を用いるFCSでは困難であった同じくらいの分子量をもつ蛋白質間の相互作用も検出できる。2種類の蛍光色素を用いる他の方法としては蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法が知られているが、FRETが生じるためには2つの蛍光色素が40~50 Å以内に近接する必要がある、蛋白質の大きさや蛍光色素の付いている位置によっては、相互作用していてもFRETが観測されない危険性がある。FCCS法では相互相関の検出は蛍光色素間の距離に依存しないので、そのような問題がない。一方、他の検出系である蛍光偏光解消法と比較すると、FCCS法は必要なサンプル量が少なく、検出時間が短く、HTSのための自動化が容易等の長所がある。さらにFCCS法では蛍光標識された分子の大きさや数というきわめて基本的な情報が得られるので、表面プラズモン共鳴法のように汎用的な用途に利用できる可能性がある。両者の違いは、表面プラズモン共鳴法では蛋白質が固定化された状態で相互作用を検出するのに対して、FCCS法ではより天然の状態に近い溶液中の相互作用を見ることができる点にある。FCCS法では、蛋白質の固定化が必要ないかわりに、蛋白質を蛍光色素で標識する必要があるが、本発明により、この課題を克服することが可能となった。

また、FCCS法では細胞内の環境に近い溶液状態で蛋白質・蛋白質相互作用や蛋白質・核酸相互作用を調べることができ、かつ解離定数 (結合定数) を1回の測定で簡便に算出することができる。

本方法においてC末端修飾蛋白質に標的分子を接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であれば如何なるものであってもよいが、好ましくは市販のFCS用装置の測定用ウェルに通常生化学的に用いられる緩衝液等に適当な濃度でC末端修飾蛋白質溶解した溶液を投入し、さらに同緩衝

液に適当な濃度で標的分子を溶解した溶液を投入する方法によって行われる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記FCS用測定装置の各測定用ウェルにそれぞれ異なる複数のC末端修飾蛋白質を投入し、これに特定の標的分子溶液を投入するか、あるいは特定のC末端修飾蛋白質を投入し、各ウェルに互いに異なる複数種の標的分子溶液を投入する方法が用いられる。

(2) 蛍光イメージングアナライズ法

蛍光イメージングアナライズ法は、固定化された分子に、修飾分子を接触せしめ、両分子の相互作用により、固定化された分子上にとどまった修飾分子から発せられる蛍光を、市販の蛍光イメージングアナライザーを用いて測定又は解析する方法である。

この方法を用いて蛋白質-標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、C末端修飾蛋白質又は標的分子のいずれか一方は上記した方法により固定化されていることが必要である。標的分子は固定化して用いる場合には修飾されているものと、されていないもののどちらも利用可能である。また、固定化しないで用いる場合には上記した修飾物質により修飾されていることが必要である。C末端修飾蛋白質は、修飾部を介して固定化されているものも、修飾部以外の部分で固定化されているものも用いることができる。

C末端修飾蛋白質、又は標的分子を固定化するための基板（固相）としては、通常、蛋白質や核酸等を固定化するのに用いられるガラス板やニトロセルロースメンブレンやナイロンメンブレン、又はプラスチック製のマイクロプレート等も用いることができる。また、表面が種々の官能基（アミノ基、カルボキシル基、チオール基、水酸基等）や種々のリガンド（ビオチン、イミノビオチン、ニッケル又はコバルト等の金属イオン、グルタチオン、糖類、ヌクレオチド類、DNA、RNA、抗体、カルモジュリン、受容体蛋白質等）が結合した上記基板等も用いることができる。

本方法において修飾標的分子又はC末端修飾蛋白質を固定化分子へ接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であればいかなるものであってもよいが、好ましくは修飾標的分子又はC末端修飾蛋白質を生化学的に通常使用される緩衝液に適当な濃度で溶解した溶液を作成し、これを固相表面に接触させる方法が好ましい。

両分子を接触せしめた後、好ましくは過剰に存在する修飾標的分子又はC末端修飾蛋白質を同緩衝液等により洗浄する工程を行い、固相上にとどまった標的分子又はC末端修飾蛋白質の修飾物質から発せられる蛍光信号、又は固定化されている修飾分子から発せられる蛍光と固相上にとどまった修飾分子から発せられる蛍光が混ざり合った信号を、市販のイメージングアナライザーを用いて測定又は解析することにより、固定化された分子と相互作用する分子を同定することができる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記固相表面に、複数のC末端修飾蛋白質又は修飾もしくは非修飾標的分子を番地付けして固定化する方法、又は1種類のC末端修飾蛋白質又は修飾もしくは非修飾標的分子に固定化されていない複数種のC末端修飾蛋白質又は修飾標的分子を接触させる方法等が用いられる。複数種のC末端修飾蛋白質又は修飾標的分子を接触させる場合には、固相にとどまった該分子を緩衝液の濃度の差等により解離させて取得し、これを既知の方法により分析することにより同定できる。

(3) 蛍光共鳴エネルギー移動法

2種類の蛍光色素を用いる他の分子間相互作用検出法として、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法がよく知られている。FRET とは、2種類の蛍光色素の一方 (エネルギー供与体) の蛍光スペクトルと、もう一方 (エネルギー受容体) の吸収スペクトルに重なりがあるとき、2つの蛍光色素間の距離が十分小さいと、供与体からの発光が起こらないうちに、その励起エネルギーが受容体を励起してしまう確率が高くなる現象をいう。したがって、相互作用を検出したい2つの蛋白質を、それぞれ供与体および受容体となる蛍光色素で標識しておき、供与体を励起すれば、2つの蛋白質が相互作用しない場合は、蛍光色素間の距離が大きいため FRETは起こらず、供与体の蛍光スペクトルが観察されるが、2つの蛋白質が相互作用して蛍光色素間の距離が小さくなると、FRETにより受容体の蛍光スペクトルが観察されるので、蛍光スペクトルの波長の違いから蛋白質間相互作用の有無を判別することができる。蛍光色素としては、供与体がフルオレセイン、受容体がローダミンという組み合わせがよく用いられている。また最近では、蛍光緑色蛋白質 (GFP) の波長の異なる変異体の組み合わせにより、細胞の中で FRETを観察し相互作用を検出する試みがなされている。この方法の欠点としては、FRETが生じるために2つの蛍光色素

が 40~50 Å 以内に近接する必要があるため、蛋白質の大きさや蛍光色素の付いている位置によっては、相互作用していても FRET が観測されない危険性があるという点が挙げられる。

(4) エバネッセント場分子イメージング法

エバネッセント場分子イメージング法とは、Funatsu, T., et al., Nature, 374, 555-559 (1995) 等に記載されている方法で、ガラス等の透明体に固定化した分子に溶液として第 2 の分子を接触せしめ、これにエバネッセント場が発生する角度でレーザー光等の光源を照射し、発生したエバネッセント光を検出器によって測定又は解析する方法である。これらの操作は、それ自体既知のエバネッセント場蛍光顕微鏡装置を用いて行うことができる。

この方法を用いて蛋白質-標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、C 末端修飾蛋白質又は標的分子のいずれか一方は上記した方法により固定化されることが必要である。標的分子は固定化する場合は修飾の必要はないが、固定化しないで用いる場合には上記した修飾物質により修飾されていることが必要である。

C 末端修飾蛋白質、又は標的分子を固定化するための基板としては、ガラス等の材質の基板が用いられ、好ましくは石英ガラスが用いられる。また、レーザー光の散乱等を防ぐために表面を超音波洗浄したものが好ましい。

本方法において固定化していない C 末端修飾蛋白質又は修飾標的分子を固定化分子へ接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であればいかなるものであってもよいが、好ましくは固定化していない C 末端修飾蛋白質又は修飾標的分子を生化学的に通常使用される緩衝液に適当な濃度で溶解した溶液を作成し、これを固相表面に滴下する方法が好ましい。

両分子を接触せしめた後、エバネッセント場照明により励起された蛍光を CCD カメラ等の検出器を用いて測定することにより、固定化された分子と相互作用する分子を同定することができる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記基板に、複数の C 末端修飾蛋白質又は修飾標的分子を番地付けして固定化する方法等が用いられる。

(5) 蛍光偏光解消法

蛍光偏光法 (Perran, J., et al., J. Phys. Rad., 1, 390-401(1926)) は、蛍光偏光で励起された蛍光分子が、励起状態の間、定常状態を保っている場合には同一の偏光平面で蛍光を放射するが、励起された分子が励起状態中に回転ブラウン運動等を行った場合に、放射された蛍光は励起光とは異なった平面になることを利用する方法である。分子の運動はその大きさに影響を受け、蛍光分子が高分子である場合には、励起状態の間の分子の運動はほとんどなく、放射光は偏光を保ったままになっているのに対して、低分子の蛍光分子の場合は、運動速度が速いために放射光の偏光が解消される。そこで、平面偏光で励起された蛍光分子から放射される蛍光の強度を、元の平面とそれに垂直な平面とで測定し、両平面の蛍光強度の割合からこの分子の運動性およびその存在状態に関する情報が得られるものである。この方法によれば、夾雑物があってもこれに影響されることなく、蛍光修飾された分子と相互作用する標的分子の挙動を追跡できる。これは蛍光修飾された分子と標的分子が相互作用するときのみ、偏光度の変化として測定されるからである。

この方法を行うための装置としては例えばBECON (Panyera社製) 等が市販されており、本方法もこれらの装置を用いることにより行うことができる。

この方法を用いて蛋白質-標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、C末端修飾蛋白質又は標的分子のいずれも溶液として供する必要がある。標的分子は修飾の必要はない。また相互作用を調べようとするC末端修飾蛋白質より非常に分子量の小さい分子は、C末端修飾蛋白質のブラウン運動に影響を及ぼさないため本方法においてはふさわしくない。

本方法においてC末端修飾蛋白質に標的分子を接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であれば如何なるものであってもよいが、好ましくは市販の蛍光偏光解消装置の測定用ウェルに通常生化学的に用いられる緩衝液等に適当な濃度でC末端修飾蛋白質溶解した溶液を投入し、さらに同緩衝液に適当な濃度で標的分子を溶解した溶液を投入する方法によって行われる。

本方法において測定するC末端修飾蛋白質および標的分子との間の相互作用は、必ずしも抗原抗体反応ほど特異性は高くはないことが考えられるため、最適の組み合わせを検出するためには、相互作用の程度を数値化することが有効である。相互作用の程度を示す指標としては、例えば一定濃度のC末端修飾蛋白質に対して、極大

蛍光偏光度を与える最小標的物濃度の値等を用いることができる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記蛍光偏光解消法測定装置の各測定用ウェルにそれぞれ異なる複数のC末端修飾蛋白質を投入し、これに特定の標的分子溶液を投入するか、又は特定のC末端修飾蛋白質を投入し、各ウェルに互いに異なる複数種の標的分子溶液を投入する方法が用いられる。

(6) 表面プラズモン共鳴法

表面プラズモン共鳴法とは、金属／液体界面で相互作用する分子によって表面プラズモンが励起され、これを反射光の強度変化で測定する方法である (Cullen, D.C., et al., Biosensors, 3(4), 211-225(1987-88))。この方法を用いて蛋白質—標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、C末端修飾蛋白質は上記した方法により固定化されていることが必要であるが、標的分子の修飾は必要ない。

C末端修飾蛋白質を固定化するための基板としては、ガラスの等の透明基板上に金、銀、白金等の金属薄膜が構成されたものが用いられる。透明基板としては、通常表面プラズモン共鳴装置用に用いられるものであればいかなるものであってもよく、レーザー光に対して透明な材料からなるものとして一般的にはガラス等からなるものであり、その厚さは0.1～5 mm程度のものが用いられる。また金属薄膜の膜厚は100～2000 Å程度が適当である。このような表面プラズモン共鳴装置用固基板として市販されているものも用いることができる。C末端修飾蛋白質の上記基板への固定化は前述した方法により行うことができる。

本方法において標的分子をC末端修飾蛋白質へ接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であればいかなるものであってもよいが、好ましくは標的分子を生化学的に通常使用される緩衝液に適当な濃度で溶解した溶液に固定化されたC末端蛋白質を接触させる方法を用いることができる。

これらの行程は市販の表面プラズモン共鳴装置、例えばBIAcore2000 (Pharmacia Biosensor社製)によってもよい。両分子を接触せしめた後、それ自体既知の表面プラズモン共鳴装置を用いて、それぞれの反射光の相対強度の時間的変化を測定することにより、固定化されたC末端修飾蛋白質と標的分子の相互作用が解析できる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記表面プラズモン共鳴装置に用いられる基板に、複数のC末端修飾蛋白質を番地付けして固定

化するか、又は1種類の固定化されたC末端修飾蛋白質に複数種の標的分子を接触させる方法等が用いられる。

(7) 固相酵素免疫検定法

固相酵素免疫検定法 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Crowther, J.R., Methods in Molecular Biology, 42 (1995)) は、固相上に固定化した抗原に対し、抗体を含む溶液を接触せしめ、両分子の相互作用 (抗原抗体反応) により、固定化された抗原上にとどまった抗体をこれと特異的に結合する修飾分子 (IgG等) から発せられる蛍光、又は修飾分子を基質とする色素から発せられる信号を、市販の検出器 (ELISAリーダー) を用いて測定又は解析する方法である。

この方法を用いて蛋白質-標的分子間相互作用の測定又は解析を行う場合、抗原となるC末端修飾蛋白質は上記した方法により固定化されていることが必要である。また抗体となる標的分子は上記した修飾物質により修飾されていることが必要である。

抗原となるC末端修飾蛋白質を固定化するための基板としては、通常ELISAに用いられるプラスチック製のマイクロプレート等も用いることができる。

本方法において抗体となる修飾標的分子を固相分子へ接触せしめる方法としては、両分子が相互作用するに十分な程度に接触する方法であればいかなるものであってもよいが、好ましくは修飾標的分子を生化学的に通常使用される緩衝液に適当な濃度で溶解した溶液を作成し、これをマイクロプレートに注入する方法が好ましい。

両分子を接触せしめた後、好ましくは過剰に存在する固定化分子に結合していない修飾分子を同緩衝液等により洗浄する工程を行い、固相上にとどまった修飾分子から発せられる蛍光を、市販のELISAリーダー等を用いて測定又は解析することにより、固定化された抗原分子と相互作用する分子を同定することができる。

この方法において、同時に多数の解析を行う方法としては、例えば上記マイクロプレートの各穴にそれぞれ異なる複数の修飾標的分子を固定化する方法が用いられる。

また、本発明の蛋白質は相互作用する分子の同定にも使用できる。

上記のそれぞれの方法により測定されC末端修飾蛋白質との間に相互作用が認

められた標的分子は、該分子の一次構造が未知の場合、それ自体既知の適当な方法により、その一次構造を解析することができる。具体的には、相互作用を認められた標的分子が蛋白質の場合、アミノ酸分析装置等によりアミノ酸配列を解析し、一次構造を特定することができる。また、標的分子が核酸の場合には、塩基配列決定方法により、オートDNAシーケンサーなどを用いれば塩基配列を決定することができる。

さらに、本発明の蛋白質は、蛋白質のライブラリーとの相互作用の解析にも使用できる。

本発明は、ベイトをc-Fos蛋白質として、プレイをマウス脳のcDNAライブラリーとして、IVVの共翻訳セクション/スクリーニングを行い、その結果得たc-Fos蛋白質と複合体を形成しうる新規の蛋白質をコードする遺伝子又は核酸配列、およびそれらの利用方法を提供する。また、c-Fos蛋白質と複合体を形成しうることが知られていない既知の蛋白質をコードする遺伝子又は核酸配列の利用方法を提供する。

本発明は、既知の遺伝子配列や核酸配列を探索するにとどまらず、予想されなかったフレームシフトによる新規のアミノ酸配列を持つ新規の蛋白質、ゲノム情報から核酸配列のみ公開されていた核酸配列を持つ新規の蛋白質、又は、全く新規の核酸配列を持つ新規の蛋白質、さらに、直接的な相互作用のみならず、予想されなかった間接的な相互作用による複合体を形成する蛋白質やそれら蛋白質をコードする遺伝子又は核酸配列、およびそれらの利用方法を提供することが可能である。

実施例

以下、本発明の蛋白質のアミノ酸配列とそれをコードする核酸の配列について具体的に記するが、下記の実施例は本発明についての具体的認識を得る一助とみなすべきものであり、本発明の範囲は下記の実施例により何ら限定されるものでない。

実施例 1

ベイトをc-Fos蛋白質として、プレイをマウス脳のcDNAライブラリーとして、IVVの共翻訳セクション/スクリーニングを行い(図2)、その結果、c-Fos蛋白質と複

合体を形成しうる新規の蛋白質をコードする遺伝子又は核酸配列を得た。

ベイトc-Fos蛋白質の作成方法は以下の通りであった。pCMV-FosCBPzzベクター(配列番号168)から、TaKaRa Ex Taq(宝酒造)を用いて、PCR(プライマー5' SP6(029)T7-FosCBPzz(配列番号169)と3' FosCBPzz(配列番号170)、PCRプログラムCYCB1(表1参照))によってDNAテンプレートを準備した。DNAテンプレートをRiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems(Promega)を用いて転写(37°C, 2h)し、ベイトc-Fos蛋白質のmRNAテンプレートを準備した。共存させるベイトDNAは、Fos/Junの結合配列を含むDNA-Fos/Jun(配列番号171)をテンプレートとし、PCR(プライマー5' DNA(配列番号172)と3' DNA(配列番号173)、PCRプログラムV-2(表1参照))によって準備した。

ブレイのマウス脳cDNAライブラリーの作成方法は以下の通りであった。図3に従ってIVVランダムライブラリーを作成した。RNAライブラリーとして、市販のマウス脳(polyA+) RNAライブラリー(組織抽出RNAライブラリーをoligo dTカラムで精製したもの; clontech)を購入した。アダプター設計は、対応付け分子の形成に適した5' UTR配列(プロモーターSP6+エンハンサー029又は0')をライブラリーに、IVV形成に必要な配列として付加するための設計を行った。マウス脳(polyA+) RNAライブラリーには、エンハンサー029をもつアダプターを使用した。エンハンサー029用のアダプターの主鎖(配列番号174又は175)と副鎖(gaattcgc又はggaattcg)は、各々TEバッファー(10mM Tris-Cl, pH8.0, 1mM EDTA)に溶解して100μMとし、主鎖と副鎖をそれぞれ10μlずつ等モルで混合した。90°Cで2分間加熱し、70°Cで5分加熱し、60°Cのウオーターバスにセットしてバスのヒーターを切ってゆっくりと60°Cから室温まで下げた。5μlづつに分注して-20°Cに保存した。次に、マウス脳(polyA+) RNAライブラリーを一本鎖DNAに逆転写した(図3, I)。マウス脳(polyA+) RNAライブラリー(1.4pmole/0.5μg)を0.5μg、3' ランダムプライマー(配列番号176)を2pmolとDEPC水とを加えて12.0μlとし、70°Cで10min加熱し、氷上で1分間冷却した。これを用いて、SuperScriptII RT (SuperScript Double Strand cDNA Synthesis Kit; Invitrogen)で45°Cで1h逆転写反応を行った。次に、逆転写反応で合成した一本鎖DNAを全量用いて、E.coli DNAリガーゼ、E.coli ポリメラーゼI、およびE.coli RNase H(SuperScript Double Strand cDNA Synthesis Kit;

Invitrogen)で16°Cで 2h反応し、さらにT4 DNAポリメラーゼで16°Cで5minで末端を平滑化し、二本鎖DNAを合成した(図3, II)。次に、この二本鎖DNAの5'末端がリン酸化されていることを利用して、先に準備したアダプターを用いてライゲーションした(図3, III)。合成した二本鎖DNAライブラリーをエタノール沈殿し、4 μ lのDEPC水に溶解した。これに、100 μ Mの準備したアダプターを1.0 μ l添加し、50 μ l ligation high(TOYOBO)を加えて、16°Cでオーバーナイトで反応させ、精製(DNA purification kit ; QIAGEN)した後50 μ lとした。次に、PCR(EX Taq Hot Start Version; TaKaRa)を行った(図3, IV)。50 μ lのライゲーションした二本鎖DNAライブラリーから2 μ lをテンプレートとして、IVVに必要な特定配列(029)を持つ5' PCRプライマー(配列番号172)と3' PCRプライマー(配列番号173)を用いて、IVV cDNAライブラリーを作成した。PCRの条件は、全量100 μ l、22サイクル(94°Cで30秒、60°Cで30秒、72°Cで90秒を1サイクルとし、最後の伸長反応は、72°Cで180秒)とした。

これらベイトc-Fos蛋白質のmRNAテンプレート、プレイのマウス脳cDNAライブラリー、そして共存させるベイトDNAを小麦の無細胞翻訳系(Wheat Germ Extract(Promega))を用いて50 μ lで共翻訳(26°C, 60min)させた。50 μ lのサンプルに対し、IgG結合バッファー(10mM Tris-Cl, pH8.0, 150mM NaCl, 0.1% NP40) 50 μ lを添加し計100 μ l(共翻訳サンプル)とした。その後、IgGアガロース(Sigma)をIgG結合バッファーで2回洗浄し、これに共翻訳サンプル(100 μ l)を加え、4°Cで2時間回転攪拌した。結合バッファーで3回、TEV 切断バッファー(10mM Tris-Cl pH8.0, 150mM NaCl, 0.1% NP40, 0.5mM EDTA, 1mM DTT)で1回洗浄し、IgGアガロースに結合したベイト/プレイ複合体をTEVプロテアーゼ(GIBCO-BRL)で切断した(16°C、2時間)。さらに、上清90 μ lを300 μ l カルモジュリン結合バッファーと0.3 μ l 1M CaCl₂、さらに、500 μ lカルモジュリン結合バッファーで2回洗浄した50 μ l カルモジュリンビーズを加えて4°Cで1時間回転攪拌した。遠心後、1000 μ l カルモジュリン結合バッファーで3回洗浄した。50 μ lカルモジュリン溶出バッファーを加えて、氷上で1~2分放置し、遠心後、50 μ lを回収した。回収した溶液をテンプレートとして、RT-PCR(One step RT-PCR kit (QIAGEN)、プライマー；配列番号177と178、プログラム；RT-QH30'(表1参照))を行った。このスク

リーニング/セクション操作(図2)を3ラウンド繰り返した後のライブラリーをクローニングしてシーケンスすることで、配列番号1～14(Fip-cxのアミノ酸配列)、配列番号15～19(Eef1dTEF-1のアミノ酸配列)、配列番号20～22(Schip1のアミノ酸配列)、それらに対応する各核酸配列が得られた(図1Aの配列番号1～22)。この結果は、エンハンサー029用のアダプターの主鎖として配列番号174を用いて作成したライブラリーおよび配列番号175を用いて作成したライブラリーのいずれでも同様であった。

どの蛋白質もLeuジッパーを持ち、c-Fosと直接相互作用があることが今回初めて明らかとなった蛋白質である。

得られた蛋白質とc-Fosとの相互作用の検証実験として、配列番号2(Fip-cx), 16(Eef1dTEF-1), 22(Schip1)の蛋白質(図1A)が無細胞翻訳系で発現することを、配列番号2-1, 16-1, 22-1のDNA配列をもとにして、WO 02/46395の実施例1の(2)コード分子の調製と(3)コード分子の翻訳にしたがって実験し、小麦無細胞翻訳系で各蛋白質が発現することをC末端ラベル化法で確認した(図4,A)。また、WO 02/46395の実施例1の(4)スペーサー分子とコード分子の連結と(5)対応付け分子の形成にしたがって、IVVの形成も確認した(図4,B)。さらに、c-Fosとの相互作用を確認するために、一段目のpull-down(図2, IgG+TEV)したものを8M urea/10% SDS-PAGEで確認した(図4C)。その結果、配列番号2(Fip-cx), 16(Eef1dTEF-1), 22(Schip1)の蛋白質はc-Fosと相互作用していることが確認できた。

また、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列による新たな機能(ここではc-Fosと結合できる機能)を利用して、c-Fosの持つ機能としての転写や遺伝子複製などをブロックする阻害剤として応用することができる。その根拠は、IVV法で検出された遺伝子は、スクリーニングを複数回繰り返すことにより競争過程を経て検出されてきていることに起因する。よって、IVV法で検出された遺伝子群は、ある個数分布を描き、競争力が強い遺伝子ほど多く検出されることになる。このことは、クローン数が多いほど競争力が強く、ブロック剤・阻害剤として有効に働くことを示している。本実施例のIVVセクションでは、ベイトc-Fosに対して、プレイとしてよく知られているc-Junが3コ(/72コ)検出された。このように、セクションで検出されるクローン数(図1A)から、Fip-cx, Eef1, Schip1は既知の蛋白質に比

較して非常に強い競争力を持ち、十分競争することができることを示しており、各蛋白質は、c-Junと既知の蛋白質の相互作用による複合体の転写や遺伝子複製などの機能をブロックする阻害剤として応用することができる。

実施例 2

実施例 1 と同様にして、ベイト c-Fos とマウス脳 cDNA ライブラリーから プレイ IVV ライブラリーを準備し、スクリーニング/セクション操作(図 2)も同様に行った。ただし、ここでは、二段スクリーニング/セクションのうち一段目の IgG ビーズによるセクションを 3 回繰り返し、4 回目のみ二段セクションを行い、配列番号 47 ~ 56 (Fip-cx.1 のアミノ酸配列)、配列番号 57 ~ 76 (Fip-cx.2 のアミノ酸配列)、配列番号 77 ~ 81 (Optin のアミノ酸配列)、配列番号 82 ~ 84 (Snap19 のアミノ酸配列)、配列番号 85 ~ 86 (C130020M04Rik のアミノ酸配列)、配列番号 87 ~ 89 (FLJ32000 のアミノ酸配列)、配列番号 90 ~ 91 (Rit2 のアミノ酸配列)、配列番号 92 ~ 93 (cytrocrome b のアミノ酸配列)、配列番号 94 ~ 95 (Apoe のアミノ酸配列)、配列番号 96 ~ 97 (App のアミノ酸配列)、配列番号 98 ~ 99 (Dnaja2 のアミノ酸配列)、配列番号 100 ~ 101 (Fip-c10 のアミノ酸配列)、配列番号 102 (Fip-c4 のアミノ酸配列)、配列番号 103 (Fip-c18 のアミノ酸配列)、それらに対応する各核酸配列が得られた(図 1 A の配列番号 47 ~ 76 及び図 1 B の配列番号 77 ~ 103)。この結果は、エンハンサー 029 用のアダプターの主鎖として配列番号 174 を用いて作成したライブラリーおよび配列番号 175 を用いて作成したライブラリーのいずれでも同様であった。

Fip-cx.1, Fip-cx.2, Optin, C130020M04Rik, FLJ32000, cytocrome b 蛋白質は Leuジッパーを持ち、Rit2, Apoe, App, Dnaja2, Fip-c10, Fip-c4, Fip-c18 蛋白質は Leuジッパーを持たず、いずれの蛋白質も c-Fos と複合体形成することが今回初めて明らかとなった蛋白質である。

得られた蛋白質と c-Fos との相互作用の検証実験として、配列番号 48 (Fip-cx.1), 75 (Fip-cx.2), 78 (Optn), 84 (Snapc5), 86 (C130020M04Rik), 88 (FLJ32000), 91 (Rit2), 93 (cytochrome b), 95 (Apoe), 97 (betaAPP), 99 (Hsp40), 101 (Fip-c10), 102 (Fip-c4), 103 (Fip-c18) の蛋白質(図 1)

が無細胞翻訳系で発現することを、配列番号105, 139, 142, 148, 150, 152, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 166, 167の核酸配列をもとにして、WO 02/46395の実施例1の(2)コード分子の調製と(3)コード分子の翻訳にしたがって実験し、小麦無細胞翻訳系で各蛋白質が発現することをC末端ラベル化法で確認した(図5,A)。また、発現を確認したそれらのC末端ラベル化蛋白質のうち、データベースには登録されていない全く新規な蛋白質である配列番号48(Fip-cx.1), 75(Fip-cx.2)をプレイ蛋白質として用いて、ベイトc-Fosとの相互作用をpull-downにより確認した。具体的には、プレイ蛋白質の作製方法は、PCR cloning kit (QIAGEN社製)を用いて、pDriveベクター(配列番号179, QIAGEN社製)にクローニングされた配列を菌体から抽出し、TaKaRa Ex Taq(宝酒造)を用いて、PCR(プライマー5'F3(配列番号180)と3'R3(配列番号181)、PCRプログラムISHI1562(表1参照)、100 μ lスケール)によってDNAテンプレートを準備した。DNAテンプレートをRibomAX™ Large Scale RNA Production Systems (Promega)を用いて転写(37°C、2時間、50 μ lスケール)を行い、プレイ蛋白質のmRNAテンプレートを準備した。

ベイトc-Fos蛋白質の作製方法はセクション/スクリーニングの際と同じである。

プレイテンプレートをC末端ラベル化法を用いた無細胞翻訳(10 μ lスケール)を1時間行い、C末端ラベル化された状態でプレイ蛋白質を作製した。同時にベイトc-fosテンプレートは無細胞翻訳(50 μ lスケール)により1時間翻訳反応を行い、ベイト蛋白質を作製した。翻訳後、両者および結合バッファーを混合させ(プレイ: 8 μ l、ベイト: 10 μ l、IgG結合バッファー: 82 μ l)、IgGアガロースビーズ50 μ lに2時間インキュベートし、ビーズを洗浄後、ビーズに20 μ lのSDS含有の緩衝液を加え、5分間100°Cで煮沸し溶出させた。このサンプルを17.5% SDS-PAGEにより展開し、FITC蛍光色素を蛍光イメージャーにより観察した(図5,B)。なお、コントロールとして、ベイトc-Fos蛋白質を加えない反応も行った。

その結果、配列番号48(Fip-cx.1), 75(Fip-cx.2)蛋白質はc-Fosと直接相互作用していることが確認できた。

さらに、図6に示すように、配列番号142(Optn)、148(Snapc5)、150(C130020M04Rik)、152(FLJ32000)の核酸配列をもとにして、リアルタイムPCRによりc-Fosと直接および間接的に相互作用している遺伝子の濃縮を確認した。具体的なリアルタイムPCRの方法は、4種の遺伝子(配列番号142(Optn)、148(Snapc5)、150(C130020M04Rik)、152(FLJ32000))についてスクリーニングにより得られた配列の範囲内で増幅されるよう、プライマーを設計した(配列番号182~189)。検量線作製用に、ポジティブコントロールのDNA断片をpDriveベクターに組み込まれた遺伝子をPCR(5' M13_Fプライマー(配列番号190)、3' M13_Rプライマー(配列番号191))を用い、表1のPCRプログラムlightcyclerを使用)により増幅し、1E03、1E05、1E07、1E09クローン/反応となるように調整した。測定は、スクリーニング前のライブラリーDNA、スクリーニングの各サイクルのライブラリーDNA、およびベイトc-Fosを添加しなかったMockライブラリーDNAをそれぞれ5ng/反応となるよう調整した。PCR測定反応はLightCycler Instrument、LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I (共にロシュ・ダイアグノスティックス)を用いて表1に示したプログラムにより、20 μ lのスケールで行った。

また、本発明による蛋白質や遺伝子又は核酸配列による新たな機能(ここではc-Fosと結合できる機能)を利用して、c-Fosの持つ機能としての転写や遺伝子複製などをブロックする阻害剤として応用することができる。その根拠は、IVV法で検出された遺伝子は、スクリーニングを複数回繰り返すことにより競争過程を経て検出されてきていることに起因する。よって、IVV法で検出された遺伝子群は、ある個数分布を描き、競争力が強い遺伝子ほど多く検出されることになる。このことは、クローン数が多いほど競争力が強く、ブロック剤・阻害剤として有効に働くことを示している。本実施例のIVVセレクションでは、ベイトc-Fosに対して、プレイとしてよく知られているJunDが3コ(/142コ)検出された。このように、セレクションで検出されるクローン数(図1A及び1B)から、Fip-cx.1, Fip-cx.2, Optnなどは既知の蛋白質に比較して非常に強い競争力を持ち、また、Snap19, FLJ32000などは、既知の蛋白質と十分競争することができることを示しており、各蛋白質は、c-Junと既知の蛋白質の相互作用による複合体の転写や遺伝子複製などの機能をブロックする阻害剤として応用することができる。

表1 PCRプログラム

プログラム名: CYCB1

反応条件:

95°C	1min	
98°C	20sec	←
55°C	1min	└─┘
72°C	4min	└─┘
4°C	ポーズ	

15サイクル

プログラム名: V-2

反応条件:

98°C	20sec	←
55°C	1min	└─┘
72°C	3min	└─┘
4°C	ポーズ	

35サイクル

プログラム名: RT-QH30'

反応条件:

60°C	30min	
95°C	15min	
94°C	30sec	←
60°C	30sec	└─┘
72°C	3min	└─┘
72°C	10min	

(1-2回目:32サイクル, 3回目:30サイクル)

プログラム名: ISHI1562

反応条件:

94°C	2min	
94°C	30sec	←
62°C	30sec	└─┘
73°C	2min	└─┘
73°C	15min	

15サイクル

プログラム名: lightcycler

反応条件:

95°C	10min	
95°C	15sec	←
X°C	10sec	└─┘
72°C	5sec	└─┘

40サイクルX: アニール温度はプライマーのT_m値により62~51°C

産業上の利用の可能性

c-Fosと相互作用する蛋白質が提供されたことにより、c-Fosとの直接的な相互作用のみならず、予想されなかった間接的な相互作用による複合体を形成する蛋白質及びそれら蛋白質をコードする核酸、ならびに、それらの利用方法を提供することが可能になる。

請求の範囲

1. 以下の (a) 又は (b) の蛋白質。
 - (a) 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。
 - (b) 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。
2. 配列番号 1～14 のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項 1 記載の蛋白質。
3. 請求項 1 又は 2 記載の蛋白質をコードする核酸。
4. 以下の (a) 又は (b) の核酸。
 - (a) 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列を含む核酸。
 - (b) 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。
5. 配列番号 23～38 のいずれかの塩基配列を含む請求項 4 記載の核酸。
6. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、請求項 1～2 のいずれか 1 項に記載の蛋白質、又は請求項 3～5 のいずれか 1 項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。
7. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、請求項 1～2 のいずれか 1 項に記載の蛋白質、又は請求項 3～5 のいずれか 1 項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。
8. 請求項 7 記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。
9. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。
 - (a) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。
 - (b) 配列番号 15～19 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相

互作用する蛋白質。

10. 有効成分の蛋白質が配列番号15～19のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項9記載の阻害剤。

11. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項9記載の阻害剤。

(a) 配列番号39～43のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号39～43のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

12. 核酸が配列番号39～43のいずれかの塩基配列を含む請求項11記載の阻害剤。

13. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号15～19のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号15～19のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号39～43のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号39～43のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

14. 蛋白質が配列番号15～19のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項13記載の方法。

15. 核酸が配列番号39～43のいずれかの塩基配列を含む請求項13記載の方法。

16. 請求項13～15のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選

択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

17. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

18. 有効成分の蛋白質が配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項17記載の阻害剤。

19. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項17記載の阻害剤。

(a) 配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号44～46のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

20. 核酸が配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む請求項19記載の阻害剤。

21. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号44～46のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

22. 蛋白質が配列番号20～22のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項21記載の方法。

23. 核酸が配列番号44～46のいずれかの塩基配列を含む請求項21記載の方法。

24. 請求項21～23のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

25. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

26. 配列番号47～56のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項25記載の蛋白質。

27. 請求項25又は26記載の蛋白質をコードする核酸。

28. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号104～118のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号104～118のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

29. 配列番号104～118のいずれかの塩基配列を含む請求項28記載の核酸。

30. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、請求項25～26のいずれか1項に記載の蛋白質、又は請求項27～29のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

31. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、請求項25～26のいずれか1項に記載の蛋白質、又は請求項27～29のいずれか

1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

32. 請求項31記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

33. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

34. 配列番号57～76のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項33記載の蛋白質。

35. 請求項33又は34記載の蛋白質をコードする核酸。

36. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号119～140のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号119～140のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

37. 配列番号119～140のいずれかの塩基配列を含む請求項4記載の核酸。

38. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、請求項33～34のいずれか1項に記載の蛋白質、又は請求項35～37のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

39. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、請求項33～34のいずれか1項に記載の蛋白質、又は請求項35～37のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

40. 請求項39記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと

相互作用するプレイのスクリーニング方法。

41. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

42. 有効成分の蛋白質が配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項41記載の阻害剤。

43. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項41記載の阻害剤。

(a) 配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号141～145のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

44. 核酸が配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む請求項43記載の阻害剤。

45. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号141～145のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

46. 蛋白質が配列番号77～81のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項45記載の方法。

47. 核酸が配列番号141～145のいずれかの塩基配列を含む請求項45記載の方法。

48. 請求項45～47のいずれか1項に記載の方法によりベイトとブレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたブレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するブレイのスクリーニング方法。

49. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

50. 有効成分の蛋白質が配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項49記載の阻害剤。

51. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項49記載の阻害剤。

(a) 配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号146～148のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

52. 核酸が配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む請求項51記載の阻害剤。

53. ベイトとブレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとブレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個の

アミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号146～148のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

54. 蛋白質が配列番号82～84のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項53記載の方法。

55. 核酸が配列番号146～148のいずれかの塩基配列を含む請求項53記載の方法。

56. 請求項53～55のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

57. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

58. 有効成分の蛋白質が配列番号85又は86のアミノ酸配列を含む請求項57記載の阻害剤。

59. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項57記載の阻害剤。

(a) 配列番号149もしくは150の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号149もしくは150の塩基配列からなる核酸とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

60. 核酸が配列番号149又は150の塩基配列を含む請求項59記載の阻害剤。

61. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号85もしくは86のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号149もしくは150の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号149もしくは150の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

62. 蛋白質が配列番号85又は86のアミノ酸配列を含む請求項61記載の方法。

63. 核酸が配列番号149又は150の塩基配列を含む請求項61記載の方法。

64. 請求項61～63のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

65. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

66. 有効成分の蛋白質が配列番号87～89のいずれかのアミノ酸配列を含む請求項65記載の阻害剤。

67. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項65記載の阻害剤。

(a) 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

68. 核酸が配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む請求項 67 記載の阻害剤。

69. ペイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ペイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ペイトが、以下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 87～89 のいずれかのアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 87～89 のいずれかのアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

70. 蛋白質が配列番号 87～89 のアミノ酸配列を含む請求項 69 記載の方法。

71. 核酸が配列番号 151～153 のいずれかの塩基配列を含む請求項 70 記載の方法。

72. 請求項 69～71 のいずれか 1 項に記載の方法によりペイトとプレイトの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ペイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

73. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 90 もしくは 91 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 90 もしくは 91 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミ

ノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

74. 有効成分の蛋白質が配列番号90もしくは91のアミノ酸配列を含む請求項73記載の阻害剤。

75. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項74記載の阻害剤。

(a) 配列番号154もしくは155の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号154もしくは155の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

76. 核酸が配列番号154又は155の塩基配列を含む請求項75記載の阻害剤。

77. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号90もしくは91のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号90もしくは91のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号154もしくは155の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号154もしくは155の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

78. 蛋白質が配列番号90又は91のアミノ酸配列を含む請求項69記載の方法。

79. 核酸が配列番号154又は155の塩基配列を含む請求項70記載の方法。

80. 請求項77～79のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイと

の間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

81. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

82. 有効成分の蛋白質が配列番号92又は93のアミノ酸配列を含む請求項81記載の阻害剤。

83. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項82記載の阻害剤。

(a) 配列番号156もしくは157の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号156もしくは157の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

84. 核酸が配列番号156又は157の塩基配列を含む請求項83記載の阻害剤。

85. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号92もしくは93のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号156もしくは157の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号156もしくは157の塩基配列からなる核酸とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコー

ドする核酸。

86. 蛋白質が配列番号92又は93のアミノ酸配列を含む請求項85記載の方法。

87. 核酸が配列番号156又は157の塩基配列を含む請求項85記載の方法。

88. 請求項85～87のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

89. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号94もしくは95のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号94もしくは95のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

90. 有効成分の蛋白質が配列番号94又は95のアミノ酸配列を含む請求項89記載の阻害剤。

91. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である請求項90記載の阻害剤。

(a) 配列番号158もしくは159の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号158もしくは159の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

92. 核酸が配列番号158又は159の塩基配列を含む請求項83記載の阻害剤。

93. ベイトとプレイトとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号94もしくは95のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 94 もしくは 95 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 158 もしくは 159 の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 158 もしくは 159 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

94. 蛋白質が配列番号 94 又は 95 のアミノ酸配列を含む請求項 93 記載の方法。

95. 核酸が配列番号 158 又は 159 の塩基配列を含む請求項 93 記載の方法。

96. 請求項 93～95 のいずれか 1 項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

97. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 96 もしくは 97 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 96 もしくは 97 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

98. 有効成分の蛋白質が配列番号 96 又は 97 のアミノ酸配列を含む請求項 97 記載の阻害剤。

99. 蛋白質が以下の (a) 又は (b) の核酸から翻訳された蛋白質である請求項 98 記載の阻害剤。

(a) 配列番号 160 もしくは 161 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 160 もしくは 161 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

100. 核酸が配列番号 160 又は 161 の塩基配列を含む請求項 99 記載の

阻害剤。

101. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の(a)もしくは(b)の蛋白質、又は以下の(a')もしくは(b')の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号96もしくは97のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号160もしくは161の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号160もしくは161の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

102. 蛋白質が配列番号96又は97のアミノ酸配列を含む請求項101記載の方法。

103. 核酸が配列番号160又は161の塩基配列を含む請求項101記載の方法。

104. 請求項101～103のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

105. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の(a)又は(b)の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号98もしくは99のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

106. 有効成分の蛋白質が配列番号98又は99のアミノ酸配列を含む請求項105記載の阻害剤。

107. 蛋白質が以下の(a)又は(b)の核酸から翻訳された蛋白質である

請求項 9 8 記載の阻害剤。

(a) 配列番号 1 6 2 もしくは 1 6 3 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 1 6 2 もしくは 1 6 3 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

1 0 8. 核酸が配列番号 1 6 2 又は 1 6 3 の塩基配列を含む請求項 1 0 7 記載の阻害剤。

1 0 9. ベイトとブレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含み、ベイトとブレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 9 8 もしくは 9 9 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 9 8 もしくは 9 9 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 1 6 2 もしくは 1 6 3 の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 1 6 2 もしくは 1 6 3 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

1 1 0. 蛋白質が配列番号 9 8 又は 9 9 のアミノ酸配列を含む請求項 1 0 9 記載の方法。

1 1 1. 核酸が配列番号 1 6 2 又は 1 6 3 の塩基配列を含む請求項 1 0 9 記載の方法。

1 1 2. 請求項 1 0 9 ~ 1 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法によりベイトとブレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたブレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するブレイのスクリーニング方法。

1 1 3. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、以下の (a) 又は (b) の蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

(a) 配列番号 1 0 0 もしくは 1 0 1 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 100 もしくは 101 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

114. 有効成分の蛋白質が配列番号 100 又は 101 のアミノ酸配列を含む請求項 113 記載の阻害剤。

115. 蛋白質が以下の (a) 又は (b) の核酸から翻訳された蛋白質である請求項 114 記載の阻害剤。

(a) 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

116. 核酸が配列番号 164 又は 165 の塩基配列を含む請求項 115 記載の阻害剤。

117. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、以下の (a) もしくは (b) の蛋白質、又は以下の (a') もしくは (b') の核酸から翻訳された蛋白質である前記方法。

(a) 配列番号 100 もしくは 101 のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号 100 もしくは 101 のアミノ酸配列において、1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

(a') 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列を含む核酸。

(b') 配列番号 164 もしくは 165 の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

118. 蛋白質が配列番号 100 又は 101 のアミノ酸配列を含む請求項 117 記載の方法。

119. 核酸が配列番号 164 又は 165 の塩基配列を含む請求項 117 記載の方法。

120. 請求項117～119のいずれか1項に記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

121. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号102のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号102のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

122. 請求項102記載の蛋白質をコードする核酸。

123. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号166の塩基配列を含む核酸。

(b) 配列番号166の塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

124. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、請求項121に記載の蛋白質、又は請求項122～123のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

125. ベイトとプレイとを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、請求項121に記載の蛋白質、又は請求項122～123のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

126. 請求項125記載の方法によりベイトとプレイとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイのスクリーニング方法。

127. 以下の(a)又は(b)の蛋白質。

(a) 配列番号103のアミノ酸配列を含む蛋白質。

(b) 配列番号103のアミノ酸配列において、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質。

128. 請求項127記載の蛋白質をコードする核酸。

129. 以下の(a)又は(b)の核酸。

(a) 配列番号167の塩基配列を含む核酸。

(b)配列番号167の塩基配列からなる核酸とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ、c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質をコードする核酸。

130. c-Fos蛋白質と相互作用する蛋白質と、c-Fos蛋白質との相互作用の阻害剤であって、請求項127に記載の蛋白質、又は請求項128～129のいずれか1項に記載の核酸から翻訳された蛋白質を有効成分とする前記阻害剤。

131. ベイトとプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトとの間の相互作用の検出方法であって、ベイトが、請求項127に記載の蛋白質、又は請求項128～129のいずれか1項に記載の核酸から翻訳する工程を含む蛋白質である前記方法。

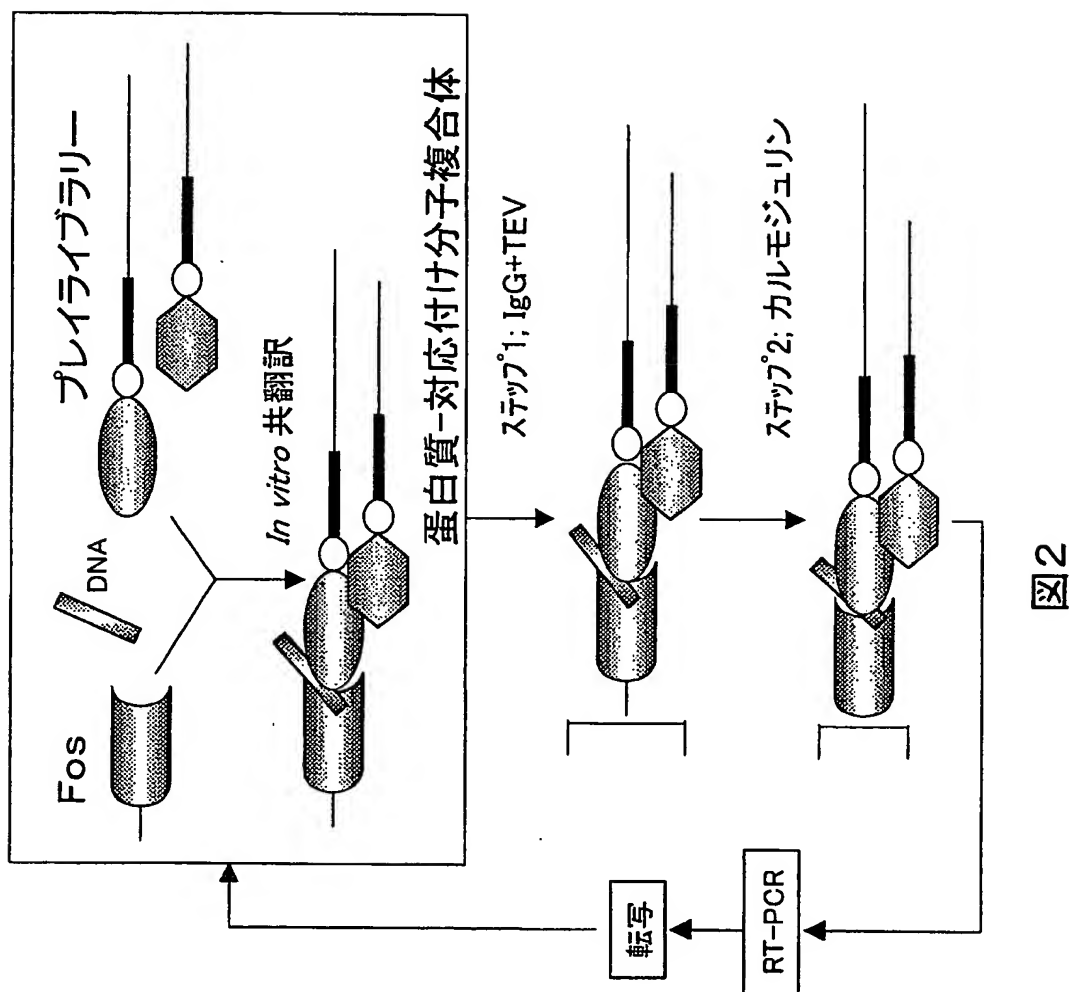
132. 請求項131記載の方法によりベイトとプレイトとの間の相互作用を検出する工程、及び、相互作用が検出されたプレイトを選択する選択工程を含む、ベイトと相互作用するプレイトのスクリーニング方法。

アミノ酸 配列番号	蛋白質・遺伝子名、アクセス番号	leu ジッ パー	核酸配列番号	クロ ン数	その他の名称 (Alternate Symbols & Alias)
1~14	Mus musculus fip-cx	○	23(1), 24(2-1), 25(2-2), 26(2-3), 27(3), 28(4), 29(5), 30(6), 31(7), 32(8), 33(9), 34(10), 35(11), 36(12), 37(13), 38(14)	29	フレームシフト(mage-d3, mRNA, AF319977, melanoma antigen, family D, 3-like, AK047777, trophinin, NM_019548, Trol, Maged3, Maged3l magphinin-alpha, mRNA, AF241245, magphinin mRNA AB032477, magphinin-beta2 mRNA, AF288605, magphinin-gamma mRNA, AF288606, trophinin-2 mRNA)
15~19	Mus musculus eukaryotic translation elongation factor 1 delta (guanine nucleotide exchange protein) (Eef1d), mRNA, NM_023240.	○	39(15), 40(16), 41(17), 42(18), 43(19)	5	5730529A16Rik
20~22	Mus musculus schwannomin interacting protein 1 (Schip1), mRNA, NM_013928.	○	44(20), 45(21), 46(22)	3	INF2p, SCHIP-1
47~56	Mus musculus fip-cx.1	○	104(47), 105(48), 106(49), 107(50-1), 108(50-2), 109(50-3), 110(50-4), 111(50- 5), 112(51-1), 113(51-2), 114(52), 115(53), 116(54), 117(55), 118(56)	15	フレームシフト(mage-d3, mRNA, AF319977, melanoma antigen, family D, 3-like, AK047777, trophinin, NM_019548, Trol, Maged3, Maged3l)
57~76	Mus musculus fip-cx.2	○	119(57), 120(58), 121(59), 122(60), 123(61), 124(62-1), 125(62-2), 126(63), 127(64), 128(65), 129(66), 130(67), 131(68), 132(69), 133(70), 134(71), 135(72), 136(73), 137(74-1), 138(74-2), 139(75), 140(76)	31	フレームシフト(magphinin-alpha, mRNA, AF241245, magphinin mRNA AB032477, magphinin-beta2 mRNA, AF288605, magphinin-gamma mRNA, AF288606, trophinin-2 mRNA)

図 1 A.

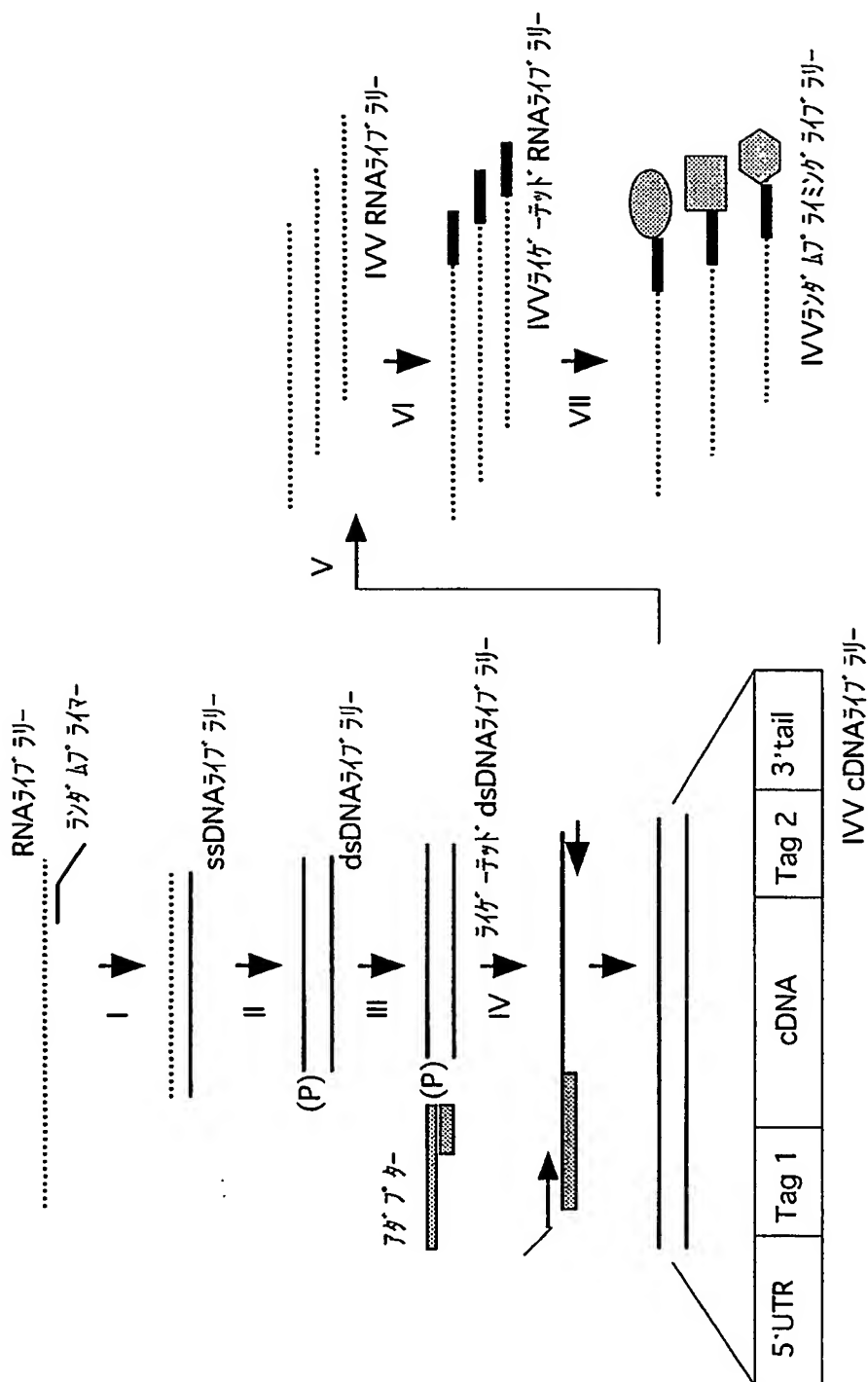
アミノ酸配 列番号	蛋白質・遺伝子名、アクセス番号	leuジッ パー	核酸配列番号	クロ ン数	その他の名称 (Alternate Symbols & Alias)
77~81	Mus musculus optineurin (Optn), NM_181848	O	141(77), 142(78), 143(79), 144(80), 145(81)	6	NRP, FIP2, HYPL, 4930441O07Rik, TFPIA-INTP
82~84	Mus musculus similar to small nuclear RNA activating complex, polypeptide 5, 19kDa; small nuclear RNA activating complex, polypeptide 5, XM_284503.1	O	146(82), 147(83), 148(84)	2	Snapc5, 2010103A03Rik
85~86	Mus musculus C130020M04Rik, BC026483	O	149(85), 150(86)	1	MGC31554
87~89	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ32000, XM_342896.1	O	151(87), 152(88), 153(89)	2	
90~91	Mus musculus Ras-like without CAAX 2 (Rit2), NM_009065.2	x	154(90), 155(91)	1	Rit2
92~93	Mus musculus isolate 1 cytochrome b gene, partial, mitochondrial gene, AF540912.1	O	156(92), 157(93)	1	
94~95	Mus musculus apolipoprotein E, NM_009696.2	x	158(94), 159(95)	1	ApoE
96~97	Mus musculus amyloid beta (A4) precursor protein, BC005490.1	x	160(96), 161(97)	1	Adap, Cvap, Abeta, appican, betaAPP, protease nexin II
98~99	Mus musculus DnaJ homolog, subfamily A, member 2, BC003420	x	162(98), 163(99)	1	Hsp40 homolog, subfamily A, member 2, DNAJ, DNJ3, mDJ3, Dnaj3, HIRIP4, PRO3015, DNA J protein
100~101	Mus musculus fip-c10, XM_136911	x	164(100), 165(101)	1	Mus musculus similar to KIAA1209 protein
102	Mus musculus fip-c4	x	166(102)	1	ゲノム(Mouse DNA sequence from clone RP23-185C16 on chromosome 4)
103	Mus musculus fip-c18	x	167(103)	1	ゲノム(Mouse musculus chromosome 18, clone RP24-572G3, AC102422.10)

図 1 B



10/538410

4/13

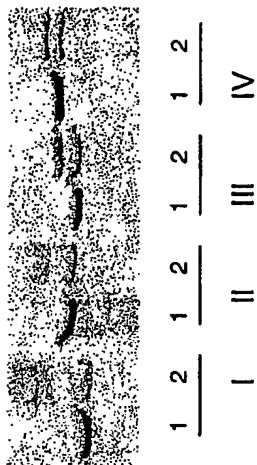


3

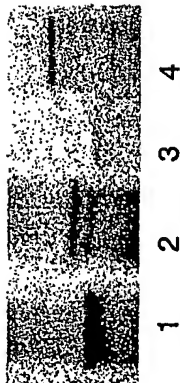
10/538410

5/13

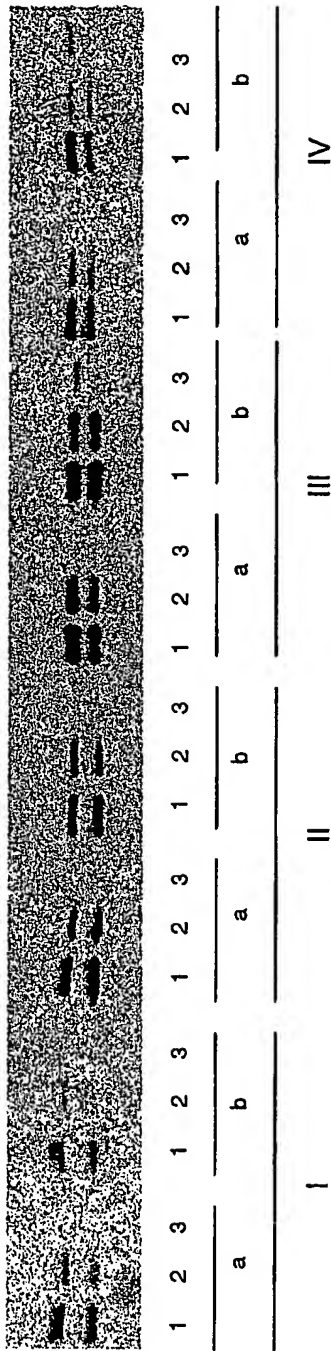
B



A



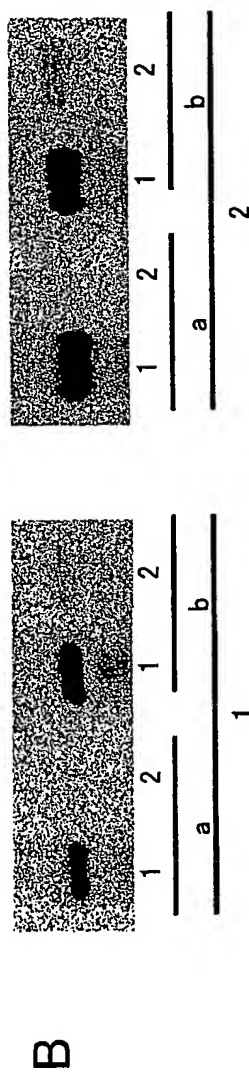
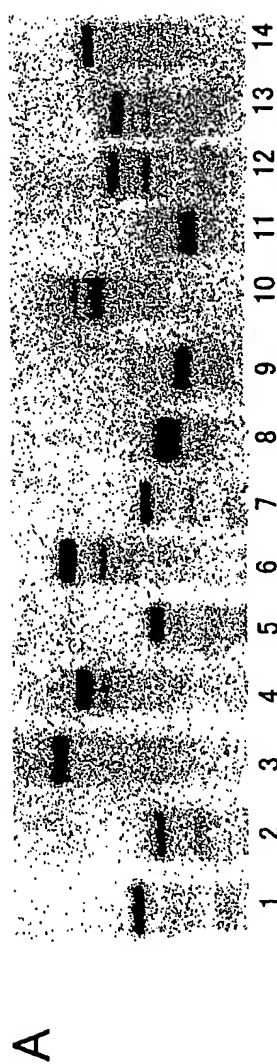
C



4

10/538410

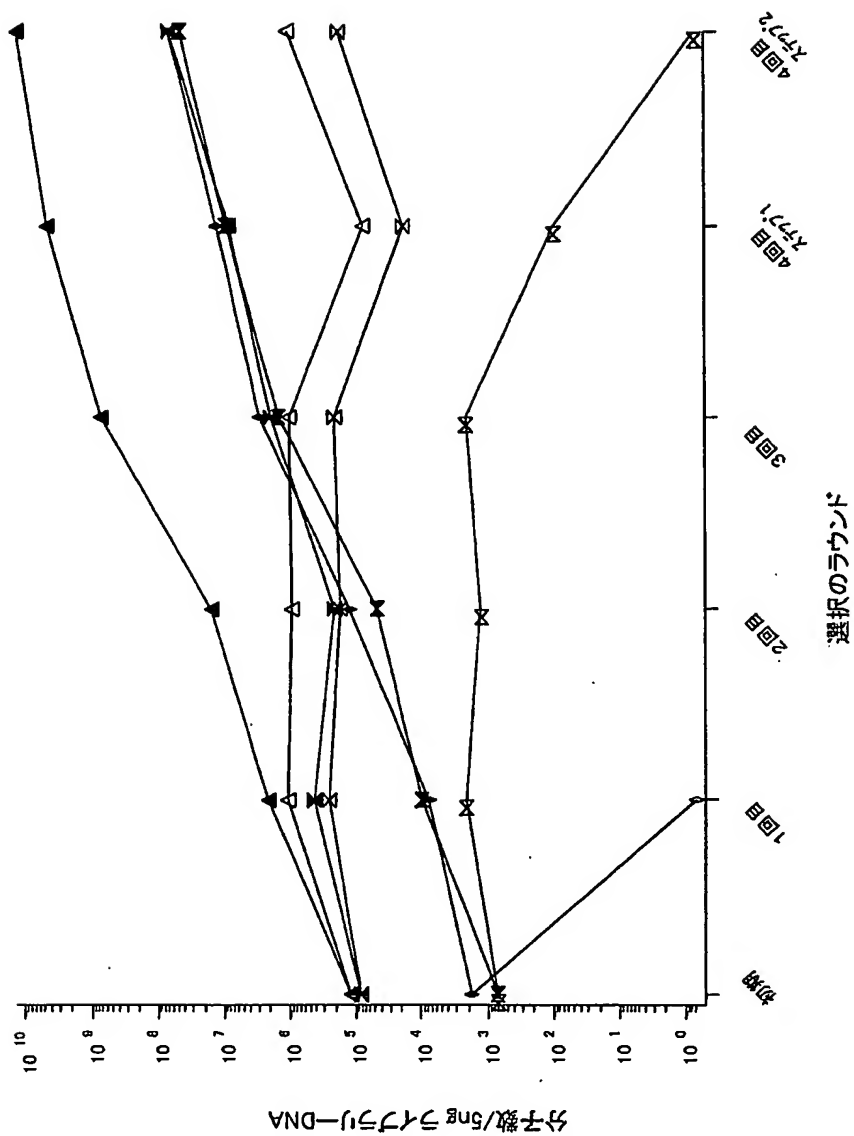
6/13



5

10/538410

7/13



遺伝子名	ライブラリー	モックライブラリー
optineurin	▲	△
C130020M04R1k	◇	◇
Rattus similar to FLJ32000	✕	✕
snapc5	✱	✱

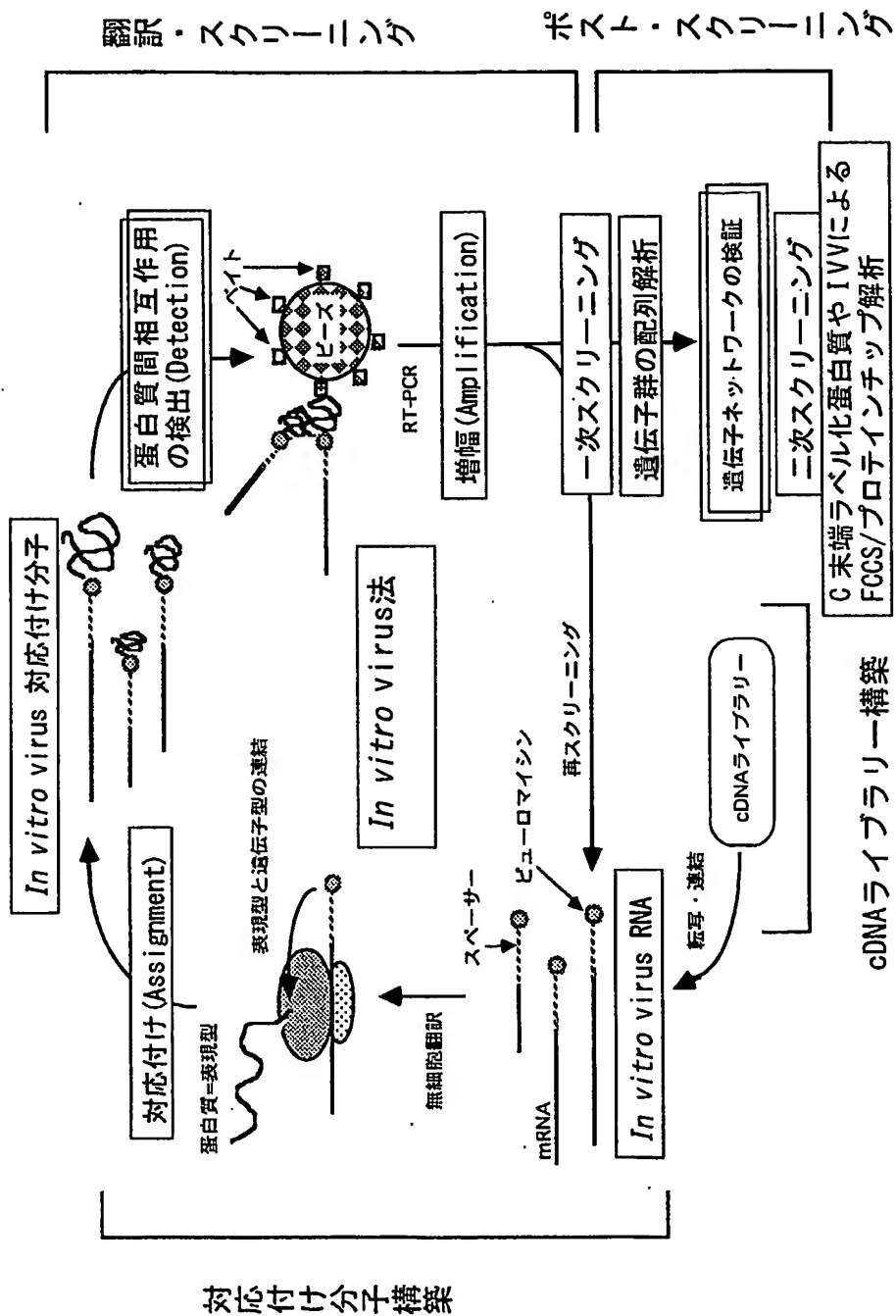


図 7

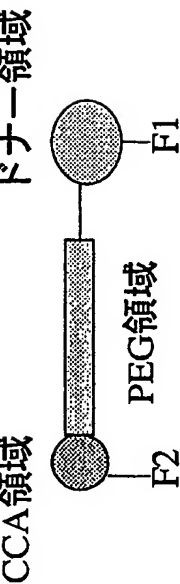
A 翻訳テンプレート

コード部



PEG部

B コード部

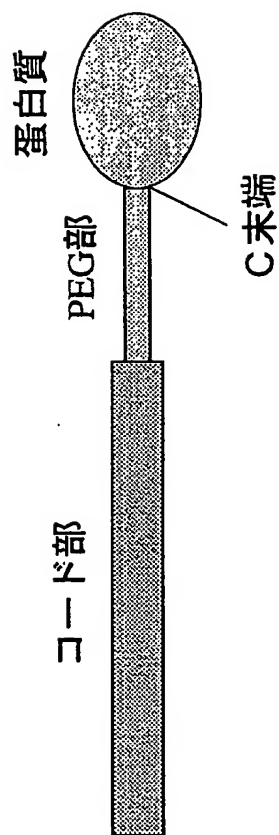


C PEG部

10/13

10/538410

A 翻訳テンプレートによってC末端修飾された蛋白質



B 翻訳テンプレート C PEG部によってC末端修飾された蛋白質

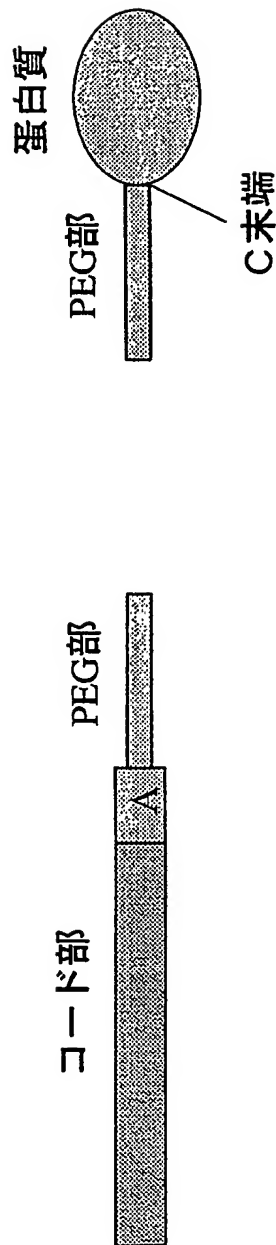


図 9

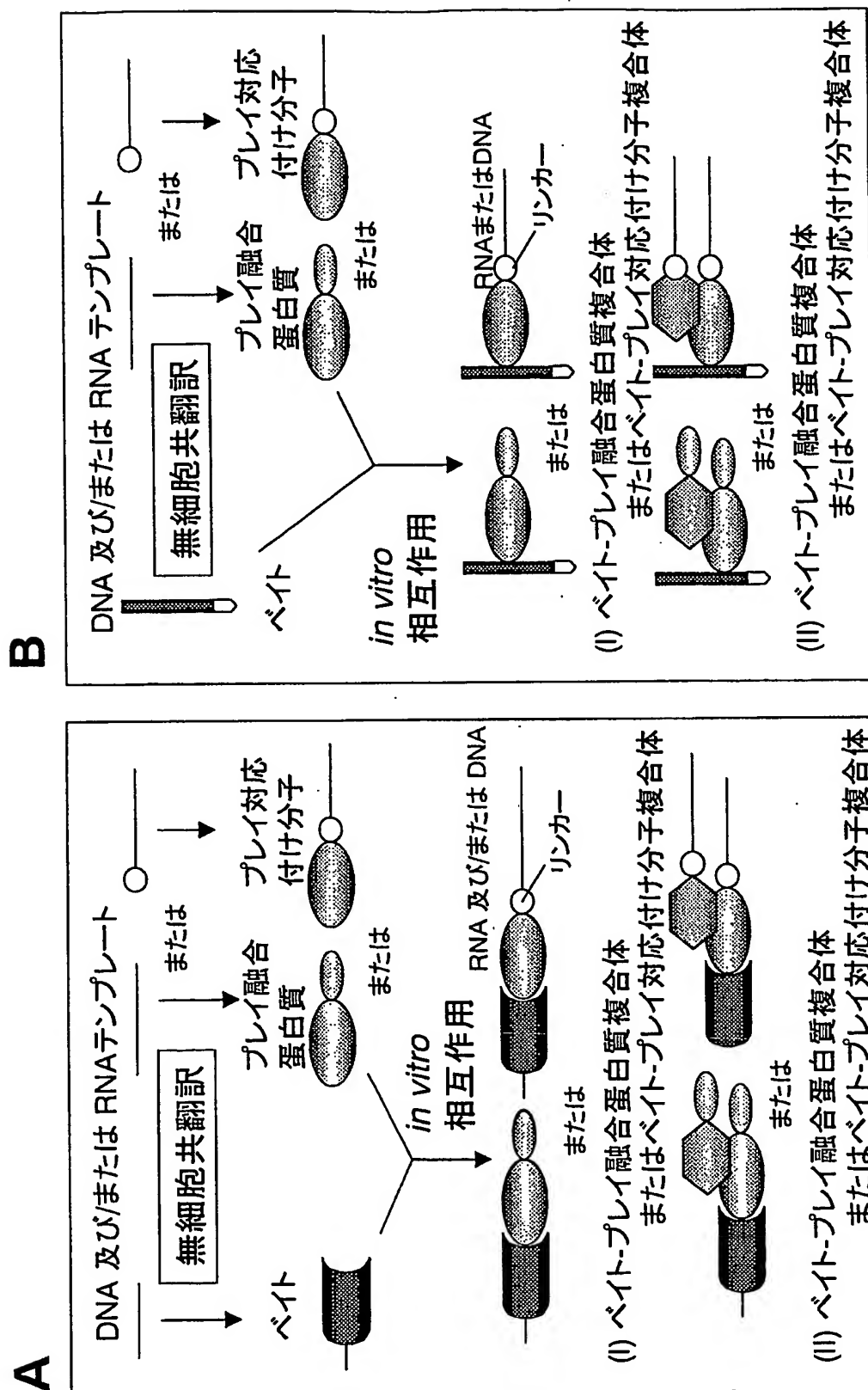


図10

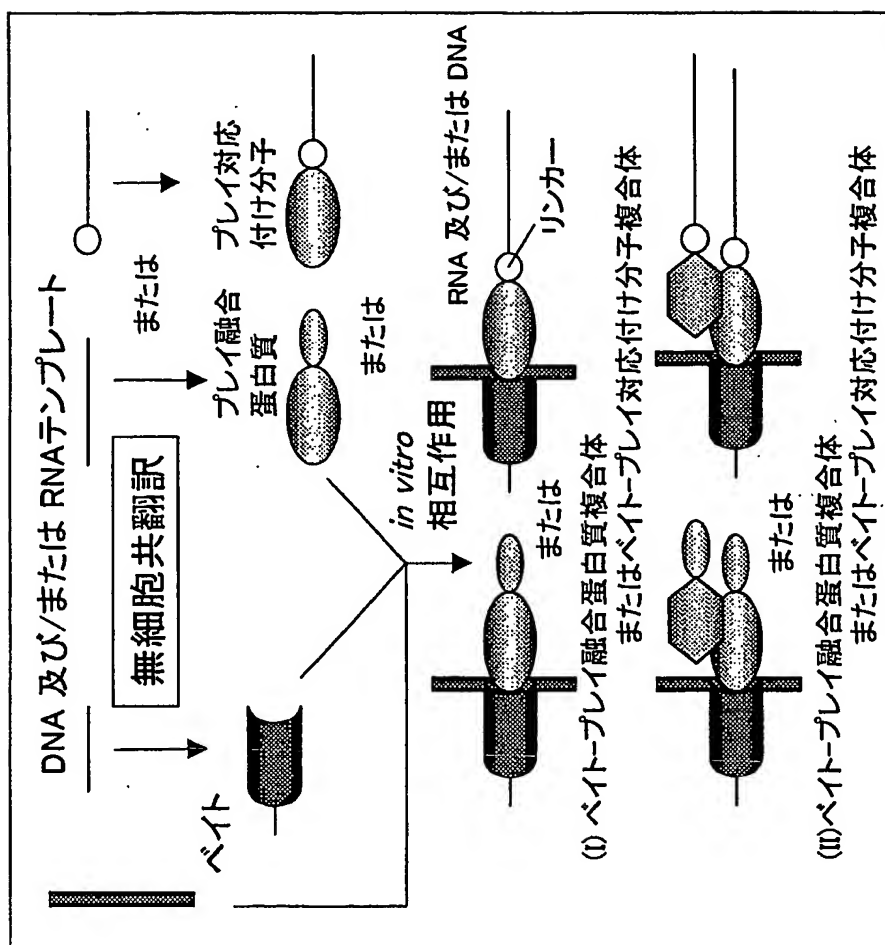


図11

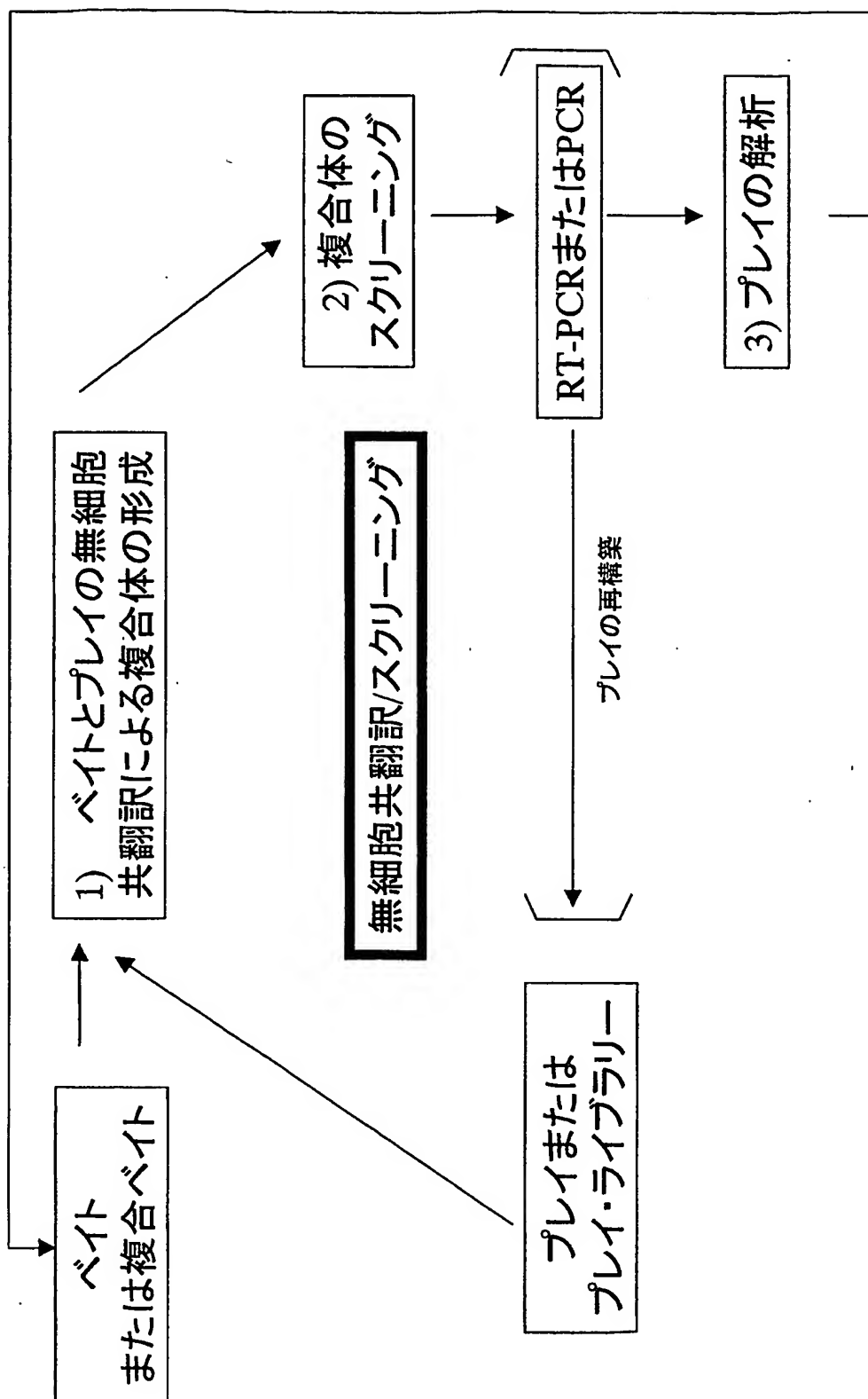


図12

配列表

<110> 学校法人慶應義塾(Keio University)

<120> c-Fos蛋白質と複合体を形成する蛋白質、及び、それをコードする
核酸、ならびに、それらの利用方法

<130> P393-OP1718

<150> JP 2002-360046

<151> 2002-12-11

<160> 191

<170> PatentIn version 3.0

<210> 1

<211> 184

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

```

Met Pro Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Gly His Leu Ala Asp Arg
1           5           10           15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg
20          25          30
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu
35          40          45
Ala Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Ser Arg Leu Gly His Leu Thr Asp
50          55          60
Arg Ser Trp His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu
65          70          75          80
Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Gln Arg Tyr
85          90          95
Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr
100         105         110
Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
115         120         125
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
130         135         140
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg His Leu
145         150         155         160
Ala Asp Arg Gln Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp

```


2/79

165 170 175
 Lys Leu Arg His Gln Leu Gln Leu
 180

<210> 2
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 2
 Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 50 55

<210> 3
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 3
 Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Val Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 50 55

<210> 4
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 4
 Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp
 1 5 10 15
 Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu

3/79

20
Ser His Pro Thr Gln Thr
35

25

30

<210> 5
<211> 45
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5
Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Asp Arg
1 5 10 15
Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Val His Leu Thr Asp Arg Leu Met
20 25 30
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
35 40 45

<210> 6
<211> 55
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 6
Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
1 5 10 15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
20 25 30
His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
35 40 45
Ala Asp Arg Arg Arg His Asp
50 55

<210> 7
<211> 55
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 7
Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
1 5 10 15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
20 25 30
His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Pro Arg His Leu

4/79

35 40 45
 Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 50 55

<210> 8
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 8
 Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 50 55

<210> 9
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 9
 Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Ile His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
 35 40 45

<210> 10
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 10
 Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr
 20 25 30
 Asp Arg Leu Arg Gln Arg

5/79

35

<210> 11
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 11
 Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Met His
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 20 25 30

<210> 12
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12
 Thr Asp Gly Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp
 1 5 10 15
 Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu
 20 25 30
 Arg His Leu Ala Asp Gln
 35

<210> 13
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 13
 Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Ile Leu Lys His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Ile His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
 35 40 45

<210> 14
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

6/79

<400> 14

Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 Arg Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Gln Arg His Asp
 50 55

<210> 15

<211> 281

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Met Ala Thr Asn Phe Leu Ala His Glu Lys Ile Trp Phe Asp Lys Phe
 1 5 10 15
 Lys Tyr Asp Asp Ala Glu Arg Arg Phe Tyr Glu Gln Met Asn Gly Pro
 20 25 30
 Val Thr Ser Gly Ser Arg Gln Glu Asn Gly Ala Ser Val Ile Leu Arg
 35 40 45
 Asp Ile Ala Arg Ala Arg Glu Asn Ile Gln Lys Ser Leu Ala Gly Ser
 50 55 60
 Ser Gly Pro Gly Ala Ser Ser Gly Pro Gly Gly Asp His Ser Glu Leu
 65 70 75 80
 Ile Val Arg Ile Thr Ser Leu Glu Val Glu Asn Gln Asn Leu Arg Gly
 85 90 95
 Val Val Gln Asp Leu Gln Gln Ala Ile Ser Lys Leu Glu Ala Arg Leu
 100 105 110
 Ser Ser Leu Glu Lys Ser Ser Pro Thr Pro Arg Ala Thr Ala Pro Gln
 115 120 125
 Thr Gln His Val Ser Pro Met Arg Gln Val Glu Pro Pro Thr Lys Lys
 130 135 140
 Gly Ala Thr Pro Ala Glu Asp Asp Glu Asp Lys Asp Ile Asp Leu Phe
 145 150 155 160
 Gly Ser Asp Glu Glu Glu Glu Asp Lys Glu Ala Ala Arg Leu Arg Glu
 165 170 175
 Glu Arg Leu Arg Gln Tyr Ala Glu Lys Lys Ala Lys Lys Pro Thr Leu
 180 185 190
 Val Ala Lys Ser Ser Ile Leu Leu Asp Val Lys Pro Trp Asp Asp Glu
 195 200 205

7/79

Thr Asp Met Ala Gln Leu Glu Thr Cys Val Arg Ser Ile Gln Leu Asp
 210 215 220
 Gly Leu Val Trp Gly Ala Ser Lys Leu Val Pro Val Gly Tyr Gly Ile
 225 230 235 240
 Arg Lys Leu Gln Ile Gln Cys Val Val Glu Asp Asp Lys Val Gly Thr
 245 250 255
 Asp Leu Leu Glu Glu Glu Ile Thr Lys Phe Glu Glu His Val Gln Ser
 260 265 270
 Val Asp Ile Ala Ala Phe Asp Lys Ile
 275 280

<210> 16
 <211> 54
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 16
 His Ser Glu Leu Ile Val Arg Ile Thr Ser Leu Glu Val Glu Asn Gln
 1 5 10 15
 Asn Leu Arg Gly Val Val Gln Asp Leu Gln Gln Ala Ile Ser Lys Leu
 20 25 30
 Glu Ala Arg Leu Ser Ser Leu Glu Lys Ser Ser Pro Thr Pro Arg Ala
 35 40 45
 Thr Ala Pro Gln Thr Arg
 50

<210> 17
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 17
 Arg Glu Leu Ile Val Arg Ile Thr Ser Leu Glu Val Glu Asn Gln Asn
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Val Val Gln Asp Leu Gln Gln Val Ile Ser Lys Leu Glu
 20 25 30
 Ala Arg Leu Ser Ser Leu Glu Lys Ser Ser Pro Thr Pro Arg Ala Thr
 35 40 45
 Ala Pro Gln Thr Arg
 50

<210> 18
 <211> 54

8/79

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

His Ser Glu Leu Ile Val Arg Ile Asn Ser Leu Glu Val Glu Asn Gln
 1 5 10 15
 Asn Leu Arg Gly Val Val Gln Asp Leu Gln Gln Ala Ile Ser Lys Leu
 20 25 30
 Glu Ala Arg Leu Ser Ser Leu Glu Lys Ser Ser Pro Thr Pro Arg Ala
 35 40 45
 Thr Ala Pro Arg Thr Arg
 50

<210> 19

<211> 54

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

His Ser Glu Leu Ile Val Arg Ile Thr Ser Leu Glu Val Glu Asn Gln
 1 5 10 15
 Asn Leu Arg Gly Val Val Gln Asp Leu Gln Gln Ala Ile Ser Arg Leu
 20 25 30
 Glu Ala Arg Leu Ser Ser Leu Glu Lys Ser Ser Pro Thr Pro Arg Ala
 35 40 45
 Thr Ala Pro Gln Thr Arg
 50

<210> 20

<211> 268

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Met Leu Ser Ala Phe Pro Ala Gln Leu Ala Gln Gln Ser Ser Phe Gly
 1 5 10 15
 Val Cys Val Leu Gly Cys Thr Glu Met Val His Gln Glu Asn Cys Ser
 20 25 30
 Tyr Gln Ala Gln Lys Asn Glu Arg Glu Ser Ile Arg Gln Lys Leu Ala
 35 40 45
 Leu Gly Ser Phe Phe Asp Asp Gly Pro Gly Ile Tyr Thr Ser Cys Ser
 50 55 60
 Lys Ser Gly Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Leu Gln Ser Gly Met Asn

9/79

65		70		75		80									
Leu	Gln	Ile	Cys	Phe	Val	Asn	Asp	Ser	Gly	Ser	Asp	Lys	Asp	Ser	Asp
				85					90					95	
Ala	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr	Glu	Thr	Ser	Leu	Asp	Thr	Pro	Leu	Ser	Pro
			100					105					110		
Met	Ser	Lys	Gln	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ser	Asp	Arg	Asp	Thr	Thr	Glu	Glu
		115					120						125		
Glu	Ser	Glu	Ser	Leu	Asp	Asp	Met	Asp	Phe	Leu	Thr	Arg	Gln	Lys	Lys
		130				135					140				
Leu	Gln	Ala	Glu	Ala	Lys	Met	Ala	Leu	Ala	Met	Ala	Lys	Pro	Met	Ala
145					150					155				160	
Lys	Met	Gln	Val	Glu	Val	Glu	Arg	Gln	Asn	Arg	Lys	Lys	Ser	Pro	Val
			165					170						175	
Ala	Asp	Leu	Leu	Pro	His	Met	Pro	His	Ile	Ser	Glu	Cys	Leu	Met	Lys
		180					185						190		
Arg	Ser	Leu	Lys	Pro	Thr	Asp	Leu	Arg	Asp	Met	Thr	Ile	Gly	Gln	Leu
	195						200					205			
Gln	Val	Ile	Val	Asn	Asp	Leu	His	Ser	Gln	Ile	Glu	Ser	Leu	Asn	Glu
	210					215					220				
Glu	Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Leu	Ile	Arg	Asp	Glu	Leu	His	Thr	Glu	Gln
225					230					235				240	
Asp	Ala	Met	Leu	Val	Asp	Ile	Glu	Asp	Leu	Thr	Arg	His	Ala	Glu	Ser
			245					250						255	
Gln	Gln	Lys	His	Met	Ala	Glu	Lys	Met	Pro	Ala	Lys				
		260						265							

<210> 21

<211> 78

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

Pro	His	Thr	Pro	His	Ile	Ser	Glu	Cys	Leu	Met	Lys	Arg	Ser	Leu	Lys
1				5					10					15	
Pro	Thr	Asp	Leu	Arg	Asp	Met	Thr	Ile	Gly	Gln	Leu	Gln	Val	Ile	Val
			20					25					30		
Asn	Asp	Leu	His	Ser	Gln	Ile	Glu	Ser	Leu	Asn	Glu	Glu	Leu	Val	Gln
		35					40					45			
Leu	Leu	Leu	Ile	Arg	Asp	Glu	Leu	His	Thr	Glu	Gln	Asp	Ala	Met	Leu
		50				55				60					
Val	Asp	Ile	Glu	Asp	Leu	Thr	Arg	His	Ala	Glu	Arg	Glu	Gln		
65					70					75					

10/79

<210> 22
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 22
 Pro His Met Pro His Ile Ser Glu Cys Leu Met Lys Arg Ser Leu Lys
 1 5 10 15
 Pro Thr Asp Leu Arg Asp Met Thr Ile Gly Gln Leu Gln Val Ile Val
 20 25 30
 Asn Asp Leu His Ser Gln Ile Glu Arg Leu Asn Glu Glu Leu Val Gln
 35 40 45
 Leu Leu Leu Ile Arg Asp Glu Leu His Thr Glu Gln Asp Ala Met Leu
 50 55 60
 Val Asp Ile Glu Asp Leu Thr Arg His Ala Glu Lys Glu Gln
 65 70 75

<210> 23
 <211> 552
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 23
 atgccattga ggcattctagc agacagattg gggcatcttg cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tgaggcatct agcagacaga ctgaggcatt taacagacag attgaggcat 120
 ctagcagaca gattgaggca tctagcagac agactgaaac atcttaccag cagattgggg 180
 catctaacag acagatcatg gcatctaaca gacagattgg ggcatttaac agacagattg 240
 aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac agaggtatct agcagacaga 300
 ttgaggcatc taacagacag attggggcat ctaacagaca gactgaggca tctaacagac 360
 agattggggc atctaacaga cagactgagg catctaacag acagattggg gcatctaaca 420
 gacagactga tgcatttaac agacagactg aggcattctag cagacagaca gaggcattcta 480
 gcagacagac agaggcatct agcagacaga ctgaggcatc tagcagacaa attgaggcat 540
 cagctgcagc tg 552

<210> 24
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 24
 gacaaactga ggcatttaac agacagattg gggcatctaa cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcac 120

11/79

ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agacagaggc acgac 165

<210> 25

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 25

gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcattctaa cagacaggct gaggcattcta 60

acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcat 120

ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agacagaggc acgac 165

<210> 26

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 26

gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcattctaa cagacagact gaggcattcta 60

acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcat 120

ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agcagaggc acgac 165

<210> 27

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 27

gacagactga ggcattctaac agacagattg gggcattttaa cagacagact gaggcatttta 60

acagacagat tggggcatgt aacagacaga ctgatgcatt taacagacag actgatgcat 120

ctaacagaca gactgaggca ttagcagac agacagaggc acgac 165

<210> 28

<211> 114

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 28

acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgaggcac taacagacag attggggcat 60

ctaacagaca gactgatgca tctaacagac agactgagcc atcctacga gacc 114

<210> 29

<211> 135

12/79

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 29

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aagcattctaa cagacagatt ggggcatcta	60
acagacagac tgggtccatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat	120
ctagcagtta gacag	135

<210> 30

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 30

gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcac	120
ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agacggaggc acgac	165

<210> 31

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 31

gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcac	120
ctaacagaca gaccgaggca tctagcagac agacagaggc acgac	165

<210> 32

<211> 165

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 32

gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcac	120
ctaacagaca gactggggca tctagcagac agacagaggc acgac	165

<210> 33

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

13/79

<400> 33

gacagattgg ggcatttaac agacagactg aagcatctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatccatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 34

<211> 114

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 34

gggcatctaa cagacagact gaggcattta acagacagat tggggcatct aacagacaga 60
ctgatgcac taacagacag actgatgcac ctaacagaca gactgaggca aaga 114

<210> 35

<211> 93

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 35

gggcatctaa cagacagact gatgcattta acagacagac tgatgcattt aacagacaga 60
ctgaggcatc tagcagacag acagaggcac gac 93

<210> 36

<211> 114

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 36

acagacggat tggggcatct aacagacaga ctgaggcatc taacagacag attggggcat 60
ctaacagaca gactgatgca tctaacagac agactgaggc atctagcaga ccag 114

<210> 37

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 37

gacagattgg ggcatttaac agacatactg aagcatctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatccatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 38

14/79

<211> 165
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 38
 gacaaactga ggcattctaac agacagattg gggcatctaa cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcgtc taacagacag actgatgcat 120
 ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agacagaggc acgac 165

<210> 39
 <211> 843
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 39
 atggctacaa actttctagc gcatgagaag atctggtttg acaagtttaa atatgatgat 60
 gcagaaagga gattctatga gcagatgaac gggcctgtga cctccggtc cggccaggag 120
 aatggtgcc a gctgattcct ccgagacatt gcaagagcca gagagaacat ccagaaatcc 180
 ttggctggaa gctcaggccc tggagcctcc agtggacctg gtggagacca cagtgcgtc 240
 attgtgagga ttaccagtct ggaagtggag aaccagaacc ttcgaggcgt ggtgcaagat 300
 ttgcagcagg ccatttccaa gttggaggcc cggctgagct ctctagagaa gatttcacct 360
 actccccgag ccacggcccc acagacccaa catgtctctc ctatgcgtca agtggagccc 420
 ccaaccaaga aaggagccac accagcagag gacgatgagg acaaggacat tgacctgttc 480
 ggcagtgcg aggaggaaga agataaggag gctgcccgcac tacgggagga gaggctacgc 540
 cagtacgcag agaagaaggc caagaagccc aactggttg ccaaattcctc catccttttg 600
 gatgttaaac cttgggatga tgagactgac atggcccagc tagagacttg tgtgcgttcc 660
 atccaatttg acgggctggt ttggggggcc tccaagcttg tgcctgttgg ctatggcatc 720
 cggaagctgc agatccagtg tgtggtggag gatgacaaag tgggcaccga cttgctcgag 780
 gaggagatca ccaaatttga ggagcatgtg cagagtgtcg acatgcgcgc tttcgacaag 840
 atc 843

<210> 40
 <211> 162
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 40
 cacagtgcgc tcattgtgag gattaccagt ctggaagtgg agaattcagaa ctttcgaggc 60
 gtggtgcaag atttcagca ggccatttcc aagttggagg cccggctgag ctctctagag 120
 aagagttcac ctactccccg agccacggcc ccacagacc ga 162

<210> 41
 <211> 159

15/79

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 41

cgtgagctca ttgtgaggat taccagtctg gaagtggaga atcagaacct tcgaggcgtg	60
gtgcaagatt tgcagcaggt catttccaag ttggaggccc ggctgagctc tctagagaag	120
agttcaccta ctccccgagc cacggcccca cagaccga	159

<210> 42

<211> 162

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 42

cacagtgagc tcattgtgag gattaacagt ttggaagtgg agaatacagaa ctttcgaggg	60
gtgggtgcaag atttgcagca ggccatttcc aagttggagg cccggctgag ctcttttagag	120
aagagttcac ctactccccg agccacggcc ccacggaccc ga	162

<210> 43

<211> 162

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 43

cacagtgagc tcattgtgag gattaccagt ctggaagtgg agaatacagaa ctttcggggc	60
gtgggtgcaag atttgcagca ggccatttcc aggttggagg cccggctgag ctctctagag	120
aagagttcac ctactccccg agccacggcc ccacagaccc ga	162

<210> 44

<211> 804

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 44

atgctcagcg ctttccctgc gcagctcgcc cagcagtcca gctttggggt ctgcgtccta	60
ggatgtactg agatgttaca tcaggagaac tgctcgtacc aggcacagaa gaatgagaga	120
gagtctatca gacagaagtt ggcaactcga agcttctttg acgatggccc aggaatctat	180
accagctgca gcaaaagtgg gaagccaagc ctttctgcaa gactacagag cgggatgaac	240
ctccagatat gctttgtcaa tgacagcggc agtgacaagg acagcgtgc agatgacagt	300
aagacggaaa ccagcttga cacgcccttg tccccatga gcaagcagag ttcttcctat	360
tcggatagag acacaactga ggaggagtct gaatccctgg atgacatgga cttcctcaca	420
aggcaaaaga agctacaagc tgaagccaaa atggctctgg ccatggccaa accaatggcc	480
aaaatgcaag tagaagtga aagacagaa aggaaaaagt ctcccgtcgc tgatcttctc	540

16/79

```

ccacacatgc ctcacataag cgaatgtttg atgaaaagaa gcttaaagcc caccgacctg 600
agagacatga ctatcgggca gctacaagtg atcgtcaatg acctccactc ccagattgaa 660
agtttgaatg aagagtttgt ccagctgctc cttattcgag atgagctgca cacagaacaa 720
gatgccatgc tggtaggacat tgaagacttg actagacacg ctgagagtca gcagaagcac 780
atggctgaga aaatgcccgc gaag 804

```

<210> 45
 <211> 234
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

```

<400> 45
ccacacacgc ctcacataag cgaatgtttg atgaaaagaa gcttaaagcc caccgacctg 60
agagacatga ctatcgggca gctacaagtg atcgtcaatg acctccactc ccagattgaa 120
agtttgaatg aagagtttgt ccagctgctc cttattcgag atgagctgca cacagaacaa 180
gatgccatgc tggtaggacat tgaagacttg actagacacg ctgagaggga gcag 234

```

<210> 46
 <211> 234
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

```

<400> 46
ccacacatgc ctcacataag cgaatgtttg atgaaaagaa gcttaaagcc caccgacctg 60
agagacatga ctatcgggca gctacaagtg atcgtcaatg acctccactc ccagattgag 120
cgtttgaatg aagagtttgt ccagctgctc cttattcgag atgagctgca cacagaacaa 180
gatgccatgc tggtaggacat tgaagacttg actagacacg ctgagaagga gcag 234

```

<210> 47
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

```

<400> 47
Met Pro Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Gly His Leu Ala Asp Arg
1           5           10          15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg
20          25          30
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Lys His Leu
35          40          45
Ala Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp
50          55          60
Arg Ser Trp His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu

```

17/79

65		70		75		80									
Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gly	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Gln	Arg	Tyr
		85				90							95		
Leu	Ala	Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gly	His	Leu	Thr
		100				105							110		
Asp	Lys	Leu	Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gly	His	Leu	Thr	Asp	Arg
		115				120							125		
Leu	Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gly	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Met
		130				135							140		
His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Met	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu
		145				150							155		160
Ala	Asp	Arg	Gln	Arg	His	Leu	Ala	Asp	Arg	Gln	Arg	His	Leu	Ala	Asp
			165							170				175	
Arg	Leu	Arg	His	Leu	Ala	Asp	Lys	Leu	Arg	His	Gln	Leu	Gln	Leu	
			180							185				190	

<210> 48
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 48
 Ile Glu Ala Ser Asn Arg Gln Ile Gly Ala Ser Asn Arg Gln Thr Glu
 1 5 10 15
 Ala Ser Asn Arg Gln Ile Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 20 25 30
 Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp
 35 40 45
 Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln
 50 55 60
 Arg His Leu Ala Asp Arg Leu
 65 70

<210> 49
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 49
 Asp Lys Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30


```

<400> 52
Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg Tyr Leu Thr Asp Arg
1          5          10          15
Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Met
          20          25          30
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
          35          40          45

```

19/79

<210> 53
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 53
 Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Thr
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
 35 40 45

<210> 54
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 54
 Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Ile His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
 35 40 45

<210> 55
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 55
 Gly Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Val Arg Gln
 35 40 45

<210> 56
 <211> 38
 <212> PRT

20/79

<213> Mus musculus

<400> 56

Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Lys His Leu Ala Asp Arg Leu Lys
 20 25 30
 His Leu Thr Asn Arg Lys
 35

<210> 57

<211> 184

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 57

Met Pro Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Gly His Leu Ala Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg
 20 25 30
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Leu Lys His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp
 50 55 60
 Arg Ser Trp His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu
 65 70 75 80
 Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Gln Arg Tyr
 85 90 95
 Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr
 100 105 110
 Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg
 115 120 125
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met
 130 135 140
 His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg His Leu
 145 150 155 160
 Ala Asp Arg Gln Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp
 165 170 175
 Lys Leu Arg His Gln Leu Gln Leu
 180

<210> 58

<211> 79

21/79

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 58

Glu	Lys	Val	Lys	Thr	Leu	Lys	Ala	Gln	Asn	Ser	Glu	Leu	Ala	Ser	Thr
1			5					10					15		
Ala	Asn	Thr	Leu	Arg	Glu	Gln	Val	Ala	Leu	Leu	Lys	Gln	Lys	Val	Met
		20				25						30			
Asn	His	Val	Asn	Ser	Gly	Cys	Gln	Leu	Met	Leu	Thr	Gln	Gln	Leu	Gln
		35				40						45			
Thr	Phe	Trp	Glu	Gln	Thr	Val	Arg	Ala	Glu	Gly	Gln	Trp	Lys	Lys	Lys
	50				55						60				
Asn	Asn	Arg	Asp	Lys	Leu	Glu	Asn	Leu	Thr	Gly	Cys	Asp	Arg	Glu	
65					70					75					

<210> 59

<211> 76

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 59

Arg	Ile	Lys	Ala	Glu	Arg	Lys	Arg	Met	Arg	Asn	Arg	Ile	Ala	Ala	Ser
1			5					10					15		
Glu	Cys	Arg	Lys	Arg	Lys	Leu	Glu	Arg	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Glu	Lys
		20				25						30			
Val	Lys	Thr	Leu	Lys	Ala	Gln	Asn	Ser	Glu	Leu	Ala	Ser	Thr	Ala	Asn
		35				40						45			
Met	Leu	Arg	Glu	Gln	Val	Ala	Gln	Leu	Lys	Gln	Lys	Val	Met	Asn	His
	50				55						60				
Val	Asn	Ser	Gly	Cys	Gln	Leu	Met	Leu	Thr	Gln	Gln				
65					70					75					

<210> 60

<211> 49

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 60

Gly	His	Leu	Ala	Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Arg	His
1			5					10					15		
Leu	Ala	Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Ala
		20				25							30		
Asp	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Ala	Asp	Arg	Leu	Lys	His	Leu	Thr	Asp	Arg

22/79

35 40 45
Tyr

<210> 61
<211> 56
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 61
His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu
1 5 10 15
Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp
20 25 30
Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Ala Asp Arg Gln
35 40 45
Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg
50 55

<210> 62
<211> 44
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 62
Ala Asp Arg Leu Gly His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp
1 5 10 15
Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu
20 25 30
Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp
35 40

<210> 63
<211> 27
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 63
Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp
1 5 10 15
Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His
20 25

23/79

<210> 64
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 64
 Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp
 1 5 10 15
 Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu
 20 25 30
 Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His
 35 40 45
 Leu Ala Asp Arg Pro
 50

<210> 65
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 65
 Arg Gln Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu
 1 5 10 15
 Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His
 20 25 30
 Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg Pro
 35 40 45

<210> 66
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 66
 Asp Arg Leu Ser His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
 1 5 10 15
 Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg
 20 25 30
 His Leu Ala Asp Arg Gln Arg
 35

<210> 67
 <211> 39

24/79

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 67

Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
1 5 10 15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg
 20 25 30
His Leu Ala Asp Arg Gln Arg
 35

<210> 68

<211> 39

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 68

Gly Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg
1 5 10 15
Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg
 20 25 30
His Leu Ala Asp Arg Gln Arg
 35

<210> 69

<211> 43

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 69

Tyr Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu
1 5 10 15
Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp
 20 25 30
Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly Gln
 35 40

<210> 70

<211> 43

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 70

25/79

Tyr Leu Ala Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 1 5 10 15
 Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp
 20 25 30
 Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly Gln
 35 40

<210> 71
 <211> 76
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 71
 Arg Ile Lys Ala Glu Arg Lys Arg Met Arg Asn Arg Ile Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Lys Cys Arg Lys Arg Lys Leu Glu Arg Ile Ala Arg Leu Glu Glu Lys
 20 25 30
 Val Lys Thr Leu Lys Ala Gln Asn Ser Glu Leu Ala Ser Thr Ala Asn
 35 40 45
 Met Leu Arg Glu Gln Val Ala Gln Leu Lys Gln Lys Val Met Asn His
 50 55 60
 Val Asn Ser Gly Cys Gln Leu Met Leu Thr Gln Gln
 65 70 75

<210> 72
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 72
 Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly
 1 5 10 15
 His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 20 25 30
 Ala Asp Arg Gln Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Lys
 35 40

<210> 73
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 73

26/79

Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly
 1 5 10 15
 His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu
 20 25 30
 Ala Asp Thr Gln
 35

<210> 74
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 74
 Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Arg Leu Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr
 20 25 30
 Asp Arg Leu Met His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His
 35 40

<210> 75
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 75
 Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr
 20 25 30
 Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg His Leu Ala Asp Arg
 35 40 45
 Gln Arg His
 50

<210> 76
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 76
 Arg His Leu Thr Asp Arg Leu Gly His Leu Thr Asp Arg Leu Arg His
 1 5 10 15

27/79

Leu Thr Asp Arg Leu Gly Arg Leu Thr Asp Arg Leu Met His Leu Thr
 20 25 30
 Asp Arg Leu Arg His Leu Ala Asp Arg Gln Arg His Leu Ala Asp Arg
 35 40 45
 Gln Arg His
 50

<210> 77
 <211> 584
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 77
 Met Ser His Gln Pro Leu Ser Cys Leu Thr Glu Lys Gly Asp Ser Pro
 1 5 10 15
 Cys Glu Thr Pro Gly Asn Gly Pro Ser Asn Met Val His Pro Ser Leu
 20 25 30
 Asp Thr Phe Thr Pro Glu Glu Leu Leu Gln Gln Met Lys Glu Leu Leu
 35 40 45
 Val Glu Asn His Gln Leu Lys Glu Ala Met Lys Leu Asn Asn Gln Ala
 50 55 60
 Met Lys Gly Arg Phe Glu Glu Leu Ser Ala Trp Thr Glu Lys Gln Lys
 65 70 75 80
 Glu Glu Arg Leu Leu Phe Glu Met Gln Ser Lys Glu Val Lys Glu Arg
 85 90 95
 Leu Lys Ala Leu Thr His Glu Asn Glu Arg Leu Lys Glu Glu Leu Gly
 100 105 110
 Lys Phe Lys Glu Lys Ser Glu Lys Pro Leu Glu Asp Leu Thr Gly Gly
 115 120 125
 Tyr Arg Tyr Pro Arg Ala Leu Glu Glu Glu Val Glu Lys Leu Lys Thr
 130 135 140
 Gln Val Glu Gln Glu Val Glu His Leu Lys Ile Gln Val Met Arg Leu
 145 150 155 160
 Arg Ala Glu Lys Ala Asp Leu Leu Gly Ile Val Ser Glu Leu Gln Leu
 165 170 175
 Lys Leu Asn Ser Gly Gly Ser Ser Glu Asp Ser Phe Val Glu Ile Arg
 180 185 190
 Met Thr Glu Gly Glu Thr Glu Gly Ala Met Lys Glu Met Lys Asn Cys
 195 200 205
 Pro Thr Pro Thr Arg Thr Asp Pro Ile Ser Leu Ser Asn Cys Thr Glu
 210 215 220
 Asp Ala Arg Ser Cys Ala Glu Phe Glu Glu Leu Thr Val Ser Gln Leu
 225 230 235 240

28/79

Leu Leu Cys Leu Arg Glu Gly Asn Gln Lys Val Glu Arg Leu Glu Val
 245 250 255
 Ala Leu Arg Glu Ala Lys Glu Arg Ile Ser Asp Phe Glu Lys Lys Ala
 260 265 270
 Asn Gly His Ser Ser Thr Glu Lys Gln Thr Ala Arg Arg Ala Asp Arg
 275 280 285
 Glu Lys Glu Asp Lys Gly Gln Glu Ser Val Gly Ser Glu Val Glu Thr
 290 295 300
 Leu Ser Ile Gln Val Thr Ser Leu Phe Lys Glu Leu Gln Glu Ala His
 305 310 315 320
 Thr Lys Leu Ser Glu Ala Glu Leu Met Lys Lys Arg Leu Gln Glu Lys
 325 330 335
 Cys Gln Ala Leu Glu Arg Lys Asn Ser Ala Thr Pro Ser Glu Leu Asn
 340 345 350
 Glu Lys Gln Glu Leu Val Tyr Ser Asn Lys Lys Leu Glu Leu Gln Val
 355 360 365
 Glu Ser Met Arg Ser Glu Ile Lys Met Glu Gln Ala Lys Thr Glu Glu
 370 375 380
 Glu Lys Ser Arg Leu Ala Thr Leu Gln Ala Thr His Asn Lys Leu Leu
 385 390 395 400
 Gln Glu His Asn Lys Ala Leu Lys Thr Ile Glu Glu Leu Thr Lys Gln
 405 410 415
 Gln Ala Glu Lys Val Asp Lys Met Leu Leu Gln Glu Leu Ser Glu Lys
 420 425 430
 Leu Glu Leu Ala Glu Gln Ala Leu Ala Ser Lys Gln Leu Gln Met Asp
 435 440 445
 Glu Met Lys Gln Thr Leu Ala Lys Gln Glu Glu Asp Leu Glu Thr Met
 450 455 460
 Ala Val Leu Arg Ala Gln Met Glu Val Tyr Cys Ser Asp Phe His Ala
 465 470 475 480
 Glu Arg Ala Ala Arg Glu Lys Ile His Glu Glu Lys Glu Gln Leu Ala
 485 490 495
 Leu Gln Leu Ala Ile Leu Leu Lys Glu Asn Asn Asp Ile Glu Glu Gly
 500 505 510
 Gly Ser Arg Gln Ser Leu Met Glu Met Gln Cys Arg His Gly Ala Arg
 515 520 525
 Thr Ser Asp Ser Asp Gln Gln Thr Tyr Leu Phe Gln Arg Gly Ala Glu
 530 535 540
 Asp Arg Ser Trp Gln His Gly Gln Gln Pro Arg Ser Ile Pro Ile His
 545 550 555 560
 Ser Cys Pro Lys Cys Gly Glu Val Leu Pro Asp Ile Asp Thr Leu Gln
 565 570 575
 Ile His Val Met Asp Cys Ile Ile

29/79

580

<210> 78
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 78
 Leu Lys Thr Gln Val Glu Gln Glu Val Glu His Leu Lys Ile Gln Val
 1 5 10 15
 Met Arg Leu Arg Ala Glu Lys Ala Asp Leu Leu Gly Ile Val Ser Glu
 20 25 30
 Leu Gln Leu Lys Leu Asn Ser Gly Gly Ser Ser Glu Asp Ser Phe Val
 35 40 45
 Glu Ile Arg Met Thr Glu Gly Glu Thr Glu Gly Ala Met Lys Glu Met
 50 55 60
 Lys Ser Cys Pro Thr Pro Thr Arg Thr Asp Pro Ile Ser Leu Ser Asn
 65 70 75 80
 Cys Thr Glu Asp Ala Arg Ser Cys Ala Glu Phe Glu Glu Leu Thr Val
 85 90 95
 Ser Gln Leu Leu Leu Cys Leu Arg Glu Gly Asn Gln
 100 105

<210> 79
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 79
 His Leu Lys Ile Gln Val Met Arg Leu Arg Ala Glu Lys Ala Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Gly Ile Val Ser Glu Leu Gln Leu Lys Leu Asn Ser Gly Gly Ser
 20 25 30
 Ser Glu Asp Ser Phe Val Glu Ile Arg Met Thr Glu Gly Glu Thr Glu
 35 40 45
 Gly Ala Met Lys Glu Met Lys Asn Cys Pro Thr Pro Thr Arg
 50 55 60

<210> 80
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30/79

<400> 80

His	Leu	Lys	Ile	Gln	Val	Met	Arg	Leu	Arg	Ala	Glu	Lys	Ala	Asp	Leu
1				5					10					15	
Leu	Gly	Ile	Val	Ser	Glu	Leu	Gln	Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser
			20				25						30		
Ser	Glu	Asp	Ser	Phe	Val	Glu	Ile	Arg	Met	Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Glu
		35					40					45			
Gly	Ala	Met	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Pro	Ala	Pro	Thr	Arg		
		50				55					60				

<210> 81

<211> 62

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 81

His	Leu	Lys	Ile	Gln	Val	Met	Arg	Leu	Arg	Ala	Glu	Lys	Ala	Asp	Leu
1				5					10					15	
Leu	Gly	Ile	Val	Ser	Glu	Leu	Arg	Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser
			20				25						30		
Ser	Glu	Asp	Ser	Phe	Val	Glu	Ile	Arg	Met	Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Glu
		35					40					45			
Gly	Ala	Met	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Pro	Thr	Pro	Thr	Arg		
		50				55					60				

<210> 82

<211> 102

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 82

Met	Leu	Ser	Arg	Leu	Gln	Glu	Leu	Arg	Lys	Glu	Glu	Glu	Thr	Leu	Leu
1				5					10					15	
Arg	Leu	Lys	Ala	Ala	Leu	His	Asp	Gln	Leu	Asn	Arg	Leu	Lys	Val	Glu
			20				25						30		
Glu	Leu	Ala	Leu	Gln	Ser	Met	Ile	Asn	Ser	Arg	Gly	Arg	Thr	Glu	Thr
		35					40					45			
Leu	Ser	Ser	Gln	Pro	Ala	Pro	Glu	Gln	Leu	Cys	Asp	Met	Ser	Leu	His
		50				55					60				
Val	Asp	Asn	Glu	Val	Thr	Ile	Asn	Gln	Thr	Thr	Leu	Lys	Leu	Ser	Thr
65					70					75				80	
Arg	Ser	Pro	Met	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu
				85				90						95	

31/79

Glu Glu Glu Ser Asp Ser
100

<210> 83
<211> 56
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 83
Arg Cys Arg Gln Lys Arg Lys Leu Trp Val Ser Ser Leu Glu Lys Lys
1 5 10 15
Ala Glu Glu Leu Thr Ser Gln Asn Ile Gln Leu Ser Asn Glu Val Thr
20 25 30
Leu Leu Arg Asn Glu Val Ala Gln Leu Lys Gln Leu Leu Leu Ala His
35 40 45

Lys Asp Cys Pro Val Thr Ala Gln
50 55

<210> 84
<211> 79
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 84
Arg Lys Trp Lys Gly Thr Leu Ser Arg Leu Gln Glu Leu Arg Lys Glu
1 5 10 15
Val Glu Thr Pro Leu Arg Leu Lys Ala Ala Leu His Asp Gln Leu Asn
20 25 30
Arg Leu Lys Val Glu Glu Leu Ala Leu Gln Ser Met Ile Asn Ser Arg
35 40 45
Gly Arg Thr Glu Thr Leu Ser Ser Gln Pro Ala Pro Glu Gln Leu Cys
50 55 60
Asp Met Ser Leu His Val Asp Asn Glu Val Thr Ile Asn Gln Thr
65 70 75

<210> 85
<211> 413
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 85
Met Gly Asp Asp Arg Pro Phe Val Cys Ser Ala Pro Gly Cys Gly Gln

32/79

1	5	10	15
Arg Phe Thr Asn Glu Asp His Leu Ala Val His Lys His Lys His Glu			
20	25	30	
Met Thr Leu Lys Phe Gly Pro Ala Arg Thr Asp Ser Val Ile Ile Ala			
35	40	45	
Asp Gln Thr Pro Thr Pro Thr Arg Phe Leu Lys Asn Cys Glu Glu Val			
50	55	60	
Gly Leu Phe Asn Glu Leu Ala Ser Ser Phe Glu His Glu Phe Lys Lys			
65	70	75	80
Ala Ser Asp Asp Asp Glu Lys Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Asp Met			
85	90	95	
Ser Leu Pro Ser Thr Pro Asp Ile Lys Ile Lys Glu Glu Glu Pro Val			
100	105	110	
Glu Val Asp Ser Ser Pro Pro Asp Ser Pro Ala Ser Ser Pro Cys Ser			
115	120	125	
Pro Pro Leu Lys Glu Lys Glu Val Thr Thr Lys Pro Val Val Ile Ser			
130	135	140	
Thr Pro Thr Pro Thr Ile Val Arg Pro Gly Ser Leu Pro Leu His Leu			
145	150	155	160
Gly Tyr Asp Pro Leu His Pro Thr Leu Pro Ser Pro Thr Ser Val Ile			
165	170	175	
Thr Gln Ala Pro Pro Ser Asn Arg Gln Ile Gly Ser Pro Thr Gly Ser			
180	185	190	
Leu Pro Leu Val Met His Leu Ala Asn Gly Gln Thr Met Pro Met Leu			
195	200	205	
Pro Gly Pro Pro Val Gln Met Pro Ser Val Ile Ser Leu Ala Arg Pro			
210	215	220	
Val Ser Met Val Pro Asn Ile Pro Gly Ile Pro Gly Pro Pro Val Asn			
225	230	235	240
Asn Ser Gly Ser Ile Ser Pro Ser Gly His Pro Met Pro Ser Glu Ala			
245	250	255	
Lys Met Arg Leu Lys Ala Thr Leu Thr His Gln Val Ser Ser Ile Asn			
260	265	270	
Gly Gly Cys Gly Met Val Val Gly Thr Ala Ser Thr Met Val Thr Ala			
275	280	285	
Arg Pro Glu Gln Asn Gln Ile Leu Ile Gln His Pro Asp Ala Pro Ser			
290	295	300	
Pro Ala Gln Pro Gln Val Ser Pro Ala Gln Pro Thr Pro Ser Thr Gly			
305	310	315	320
Gly Arg Arg Arg Arg Thr Val Asp Glu Asp Pro Asp Glu Arg Arg Gln			
325	330	335	
Arg Phe Leu Glu Arg Asn Arg Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Gln Lys			
340	345	350	

33/79

Arg Lys Leu Trp Val Ser Ser Leu Glu Lys Lys Ala Glu Glu Leu Thr
 355 360 365
 Ser Gln Asn Ile Gln Leu Ser Asn Glu Val Thr Leu Leu Arg Asn Glu
 370 375 380
 Val Ala Gln Leu Lys Gln Leu Leu Leu Ala His Lys Asp Cys Pro Val
 385 390 395 400
 Thr Ala Leu Gln Lys Lys Thr Gln Gly Tyr Leu Gly Lys
 405 410

<210> 86
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 86
 Arg Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Gln Lys Arg Lys Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15
 Ser Leu Glu Lys Lys Ala Glu Glu Leu Thr Ser Gln Asn Ile Gln Leu
 20 25 30
 Ser Asn Lys Val Thr Leu Leu Arg Asn Glu Val Ala Gln Leu Lys Gln
 35 40 45
 Leu Leu Leu Ala His Lys Asp Cys Pro Gly
 50 55

<210> 87
 <211> 1031
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 87
 Met Thr Asn Pro Lys Gly Lys Arg Arg Gly Thr Gln Ser Met Phe Ser
 1 5 10 15
 Arg Pro Phe Arg Lys His Gly Val Val Ser Leu Ala Thr Tyr Met Arg
 20 25 30
 Ile Tyr Lys Lys Arg Asp Ile Val Asp Ile Lys Gly Met Gly Thr Val
 35 40 45
 Gln Lys Gly Met Pro Cys Lys Cys Tyr His Gly Lys Thr Gly Arg Val
 50 55 60
 Tyr Asn Val Thr Gln His Ala Met Gly Ile Ile Val Asn Lys Gln Val
 65 70 75 80
 Lys Gly Lys Ile Leu Ala Lys Arg Ile Asn Val Gln Ile Glu His Ile
 85 90 95
 Lys His Ser Lys Ser Arg Asp Gly Phe Leu Lys Gln Gly Glu Ala Ala

34/79

100	105	110
His Phe Glu Tyr Leu Leu Tyr	Pro Leu His Ser Ala Ser	Ile Thr Gly
115	120	125
Leu Ala Thr Cys Ile Arg Lys	Pro Leu Ile Ala Thr Cys	Ser Leu Asp
130	135	140
Arg Ser Val Arg Ile Trp Asn Tyr	Glu Ser Asn Ser Ser Cys Cys	Lys
145	150	155
Ala Leu Arg Glu Asp Leu Trp Leu	Leu Leu Phe His Ile Thr	Ala
165	170	175
Pro Ala Thr Leu Ser Ser Pro Pro	Val Ile Phe Phe Cys Thr	Leu Glu
180	185	190
Leu Tyr Lys Glu Tyr Gln Glu Glu	Ala Tyr Thr Val Ser Leu	His Pro
195	200	205
Ser Gly His Tyr Ile Val Val Gly	Phe Ala Asp Lys Leu Arg	Leu Met
210	215	220
Asn Leu Leu Ile Asp Asp Ile Arg	Ser Phe Lys Glu Tyr Ser	Val Arg
225	230	235
Gly Cys Lys Glu Cys Ala Phe Ser	Asn Gly Gly His Leu Phe	Ala Ala
245	250	255
Val Asn Gly Asn Val Ile His Ile	Phe Thr Thr Thr Asn Leu	Glu Asn
260	265	270
Ile Asn Asn Leu Lys Gly His Thr	Gly Lys Arg Glu Thr Glu	Cys Val
275	280	285
Leu Lys Val Cys Ser Tyr Asn Ser	Val Thr Ile Ser Pro Asp	Gly Lys
290	295	300
Val Ile Phe Ala Val Gly Ser Asp	Gln Thr Leu Lys Glu Ile	Ala Asp
305	310	315
Ser Leu Ile Leu Arg Glu Ile Pro	Ala Phe Asp Val Val Tyr	Thr Ala
325	330	335
Ile Thr Ile Ser His Ser Gly Arg	Met Ile Phe Val Gly Thr	Ser Val
340	345	350
Gly Thr Ile Arg Ala Met Lys Tyr	Pro Leu Pro Leu Gln Arg	Glu Phe
355	360	365
Asn Glu Tyr Gln Ala His Ala Gly	Pro Val Thr Lys Ile Leu	Leu Thr
370	375	380
Phe Asp Asp Gln Phe Leu Leu Thr	Val Ser Glu Asp Gly Cys	Leu Phe
385	390	395
Thr Trp Lys Val Phe Asp Lys Glu	Gly Arg Gly Ile Lys Arg	Glu Arg
405	410	415
Glu Val Gly Phe Ala Glu Glu Val	Leu Val Thr Lys Thr Asp	Met Glu
420	425	430
Glu Lys Ile Leu His Arg Asn Leu	Ala Thr Glu Phe Arg Arg	Pro Met
435	440	445

35/79

Ser	Lys	His	Leu	Glu	Cys	Pro	Thr	Ser	Glu	Thr	Gly	Pro	Leu	Thr	Thr
450						455					460				
Ile	Asn	Ile	Ser	Pro	Val	Gln	Pro	Arg	Pro	Trp	Gly	His	Val	Leu	Thr
465					470					475				480	
Cys	Arg	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Asp	Ser	Ala	Val	Ala	Ser	Thr	Arg	Gly
				485					490					495	
Ser	Val	Asp	Ser	Ala	Val	Lys	Pro	Asp	Arg	Ser	Thr	Pro	Thr	Gln	Glu
			500					505					510		
Val	Arg	Ile	Pro	Pro	Lys	Pro	Ala	Ser	Gly	Val	His	Thr	Arg	Cys	Gln
	515						520					525			
Leu	Gly	Val	Gln	Lys	Gln	Met	Glu	His	Val	Ser	Val	Val	Met	Glu	Val
	530					535					540				
Arg	Glu	Thr	Asn	Arg	Gln	Arg	Gln	Gly	Gly	Gly	Ala	Arg	Asn	Val	Ile
545					550					555				560	
Lys	Ala	Gln	Ile	Met	Leu	Glu	Leu	Lys	Thr	Arg	Val	Glu	Glu	Leu	Lys
				565					570					575	
Met	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gln	Leu	Arg	Leu	Lys	Asp	Met	Asn	Tyr	Ser	Glu
			580					585					590		
Lys	Ile	Lys	Glu	Leu	Thr	Asp	Lys	Phe	Ile	Gln	Glu	Met	Glu	Ser	Leu
	595						600				605				
Lys	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Leu	Lys	Thr	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Asp	Ile
	610					615					620				
Ser	His	Arg	Glu	His	Leu	Glu	Asp	Leu	Ile	Glu	Arg	Gln	Ser	Arg	Glu
625					630					635				640	
Leu	Gln	Asp	Leu	Glu	Cys	Cys	Asn	Asn	Gln	Lys	Leu	Leu	Leu	Glu	Tyr
				645					650					655	
Glu	Lys	Tyr	Gln	Glu	Leu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gln	Arg	Met	Gln	Glu	Glu
			660					665					670		
Tyr	Glu	Lys	Gln	Leu	Arg	Asp	Asn	Asp	Glu	Thr	Lys	Ser	Gln	Ala	Leu
			675				680						685		
Glu	Glu	Leu	Thr	Glu	Phe	Tyr	Glu	Ala	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Thr	Gly
	690					695					700				
Leu	Leu	Glu	Glu	Ala	Leu	Ser	Thr	Ala	Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro	Ser
705					710					715				720	
Ala	His	Val	Leu	Ser	Pro	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser	Gln	Ala	Gln	Glu	Asp
				725					730					735	
Val	Arg	Gln	Gln	Leu	Arg	Glu	Phe	Glu	Glu	Thr	Lys	Lys	Gln	Ile	Glu
			740					745					750		
Glu	Asp	Glu	Asp	Arg	Glu	Ile	Gln	Asp	Ile	Lys	Thr	Lys	Tyr	Glu	Arg
	755						760					765			
Lys	Leu	Arg	Asp	Glu	Lys	Glu	Ser	Asn	Leu	Arg	Leu	Lys	Gly	Glu	Thr
	770						775					780			
Gly	Ile	Met	Arg	Lys	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	Gln	Lys	Glu	Ile	Glu	Glu

36/79

785 790 795 800
 Arg Thr Asn Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr Glu Gln Val Lys Leu Gln
 805 810 815
 Gly Val Ile Arg Ser Leu Glu Lys Asp Ile Gln Gly Leu Lys Arg Glu
 820 825 830
 Ile Gln Glu Arg Asp Glu Thr Ile Gln Asp Lys Glu Lys Arg Ile Tyr
 835 840 845
 Asp Leu Lys Lys Lys Asn Gln Glu Leu Glu Lys Phe Lys Phe Val Leu
 850 855 860
 Asp Tyr Lys Ile Lys Glu Leu Lys Lys Gln Ile Glu Pro Arg Glu Asn
 865 870 875 880
 Glu Ile Lys Val Met Lys Glu Gln Ile Gln Glu Asn Pro Val Asn His
 885 890 895
 Trp Leu Arg Ser Arg Glu Arg Glu Cys Val Thr Gln Pro Arg His Leu
 900 905 910
 Arg Leu Pro Ala Pro Gln Asn Lys Leu Asp Gly Asn Leu Ala Cys Gly
 915 920 925
 Pro Val Arg Gly Arg Leu Cys His Ser Asp Ala Thr Ser Gly Ala Leu
 930 935 940
 Asn Val Gln Gly Ile Leu Cys Leu Phe His Leu Pro Phe Pro Cys Asp
 945 950 955 960
 Arg Thr Pro Ser Phe Phe Pro Gly Glu Ala Cys Leu Leu Val Phe Ser
 965 970 975
 Leu Leu Ile Asp Val Leu Cys Arg Pro Thr Ser Asp Val Pro Val Ala
 980 985 990
 Ala Gly Asp Phe Leu Pro Cys Gly Gly Pro Leu His Leu Pro Pro Glu
 995 1000 1005
 Leu His His Leu Thr Val Ile Arg Thr Asn Ala Ser Pro Gln Lys
 1010 1015 1020
 Cys Tyr Pro Pro Thr Ser Pro Leu
 1025 1030

<210> 88

<211> 70

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 88

Lys Lys Phe Ser Ser Leu Gln Lys Glu Ile Glu Glu Arg Thr Asn Asp
 1 5 10 15
 Ile Glu Leu Leu Lys Ser Glu Arg Met Lys Leu Gln Gly Ile Ile Arg
 20 25 30
 Ser Leu Glu Lys Asp Ile Gln Gly Leu Lys Arg Glu Ile Gln Glu Arg

37/79

35	40	45
Asp Glu Thr Ile Gln Asp Met Glu Lys Leu Asp Tyr Lys Asp Asp Tyr		
50	55	60
Asn Ser Asn Leu Glu Ile		
65	70	

<210> 89
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 89
 Lys Lys Phe Ser Ser Leu Gln Lys Glu Ile Glu Glu Arg Thr Asn Asp
 1 5 10 15
 Ile Glu Leu Leu Lys Ser Glu Arg Met Lys Leu Gln Gly Ile Ile Arg
 20 25 30
 Ser Leu Glu Lys Asp Ile Gln Gly Leu Lys Arg Glu Ile Gln Glu Arg
 35 40 45
 Asp Glu Thr Ile Gln Asp Met Glu
 50 55

<210> 90
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 90
 Met Glu Val Glu Asn Glu Ala His Cys Cys Pro Gly Ser Ser Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser Arg Glu Tyr Lys Val Val Met Leu Gly Ala Gly Gly Val Gly
 20 25 30
 Lys Ser Ala Val Thr Met Gln Phe Ile Ser His Gln Phe Pro Asp Tyr
 35 40 45
 His Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ala Tyr Lys Thr Gln Val Arg Ile Asp
 50 55 60
 Asn Glu Pro Ala Tyr Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Phe Thr Ala Met Arg Glu Gln Tyr Met Arg Gly Gly Glu Gly Phe Ile
 85 90 95
 Ile Cys Tyr Ser Val Thr Asp Arg Gln Ser Phe Gln Glu Ala Ala Lys
 100 105 110
 Phe Lys Glu Leu Ile Phe Gln Val Arg His Thr Tyr Glu Ile Pro Leu
 115 120 125

38/79

Val Leu Val Gly Asn Lys Ile Asp Leu Glu Gln Phe Arg Gln Val Ser
 130 135 140
 Thr Glu Glu Gly Met Asn Leu Ala Arg Asp Tyr Asn Cys Ala Phe Phe
 145 150 155 160
 Glu Thr Ser Ala Ala Leu Arg Phe Gly Ile Asp Asp Ala Phe Gln Gly
 165 170 175
 Leu Val Arg Glu Ile Arg Arg Lys Glu Ser Met Leu Ser Leu Val Glu
 180 185 190
 Arg Lys Leu Lys Arg Lys Asp Ser Leu Trp Lys Lys Ile Lys Ala Ser
 195 200 205
 Leu Lys Lys Lys Arg Glu Asn Met Leu
 210 215

<210> 91
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 91
 Ala Ala Leu Arg Phe Gly Ile Asp Asp Ala Leu Gln Gly Leu Val Arg
 1 5 10 15
 Glu Ile Arg Arg Lys Glu Ser Met Leu Pro Leu Val Glu Arg Lys Leu
 20 25 30
 Lys Arg Lys Asp Ser Leu Trp Lys Lys Ile Lys Ala Ser Leu Lys Lys
 35 40 45
 Lys Arg
 50

<210> 92
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 92
 Gly Ala Thr Val Ile Thr Asn Leu Leu Ser Ala Ile Pro Tyr Ile Gly
 1 5 10 15
 Thr Thr Leu Val Glu Trp Ile Trp Gly Gly Phe Ser Val Asp Lys Ala
 20 25 30
 Thr Leu Thr Arg Phe Phe Ala Phe His Phe Ile Leu Pro Phe Ile Ile
 35 40 45
 Ala Ala Leu Ala Ile Val His Leu Leu Phe Leu His Glu Thr Gly Ser
 50 55 60
 Asn Asn Pro Thr Gly Leu Asn Ser Asp Ala Asp Lys Ile Pro Phe His

65					70					75					80	
Pro	Tyr	Tyr	Thr	Ile	Lys	Asp	Ile	Leu	Gly	Ile	Leu	Ile	Met	Phe	Leu	
				85					90					95		
Ile	Leu	Met	Thr	Leu	Val	Leu	Phe	Phe	Pro	Asp	Met	Leu	Gly	Asp	Pro	
				100					105					110		
Asp	Asn	Tyr	Met	Pro	Ala	Asn	Pro	Leu	Asn	Thr	Pro	Pro	His	Ile	Lys	
				115					120					125		
Pro	Glu	Trp	Tyr	Phe	Leu	Phe	Ala	Tyr	Ala	Ile	Leu					
				130					135					140		

```

<400> 93
Ser Asp Ala Asp Lys Ile Pro Phe His Pro Tyr Tyr Thr Ile Lys Asn
1          5          10          15
Ile Leu Gly Ile Leu Ile Ile Phe Leu Ile Leu Ile Thr Leu Val Leu
          20          25          30
Phe Phe Pro Asp Ile Leu Gly Asp Pro
          35          40

```

```

<400> 94
Met Lys Ala Leu Trp Ala Val Leu Leu Val Thr Leu Leu Thr Gly Cys
1          5          10          15
Leu Ala Glu Gly Glu Pro Glu Val Thr Asp Gln Leu Glu Trp Gln Ser
          20          25          30
Asn Gln Pro Trp Glu Gln Ala Leu Asn Arg Phe Trp Asp Tyr Leu Arg
          35          40          45
Trp Val Gln Thr Leu Ser Asp Gln Val Gln Glu Glu Leu Gln Ser Ser
          50          55          60
Gln Val Thr Gln Glu Leu Thr Ala Leu Met Glu Asp Thr Met Thr Glu
65          70          75          80
Val Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Leu Glu Glu Gln Leu Gly Pro Val Ala
          85          90          95
Glu Glu Thr Arg Ala Arg Leu Gly Lys Glu Val Gln Ala Ala Gln Ala
          100          105          110

```

40/79

Arg Leu Gly Ala Asp Met Glu Asp Leu Arg Asn Arg Leu Gly Gln Tyr
 115 120 125
 Arg Asn Glu Val His Thr Met Leu Gly Gln Ser Thr Glu Glu Ile Arg
 130 135 140
 Ala Arg Leu Ser Thr His Leu Arg Lys Met Arg Lys Arg Leu Met Arg
 145 150 155 160
 Asp Ala Asp Asp Leu Gln Lys Arg Leu Ala Val Tyr Lys Ala Gly Ala
 165 170 175
 Arg Glu Gly Ala Glu Arg Gly Val Ser Ala Ile Arg Glu Arg Leu Gly
 180 185 190
 Pro Leu Val Glu Gln Gly Arg Gln Arg Thr Ala Asn Leu Gly Ala Gly
 195 200 205
 Ala Ala Gln Pro Leu Arg Asp Arg Ala Gln Ala Phe Gly Asp Arg Ile
 210 215 220
 Arg Gly Arg Leu Glu Glu Val Gly Asn Gln Ala Arg Asp Arg Leu Glu
 225 230 235 240
 Glu Val Arg Glu His Met Glu Glu Val Arg Ser Lys Met Glu Glu Gln
 245 250 255
 Thr Gln Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg Leu Lys
 260 265 270
 Gly Trp Phe Glu Pro Ile Val Glu Asp Met His Arg Gln Trp Ala Asn
 275 280 285
 Leu Met Glu Lys Ile Gln Ala Ser Val Ala Thr Asn Pro Ile Ile Thr
 290 295 300
 Pro Val Ala Gln Glu Asn Gln
 305 310

<210> 95
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 95
 Thr Glu Val Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Leu Glu Glu Gln Leu Gly Pro
 1 5 10 15
 Val Ala Glu Glu Thr Arg Ala Arg Leu Gly Lys Glu Glu Gln Gly
 20 25 30

<210> 96
 <211> 695
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

41/79

<400> 96

```

Met Leu Pro Ser Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala Trp Thr Val Arg
1           5           10           15
Ala Leu Glu Val Pro Thr Asp Gly Asn Ala Gly Leu Leu Ala Glu Pro
20           25           30
Gln Ile Ala Met Phe Cys Gly Lys Leu Asn Met His Met Asn Val Gln
35           40           45
Asn Gly Lys Trp Glu Ser Asp Pro Ser Gly Thr Lys Thr Cys Ile Gly
50           55           60
Thr Lys Glu Gly Ile Leu Gln Tyr Cys Gln Glu Val Tyr Pro Glu Leu
65           70           75           80
Gln Ile Thr Asn Val Val Glu Ala Asn Gln Pro Val Thr Ile Gln Asn
85           90           95
Trp Cys Lys Arg Gly Arg Lys Gln Cys Lys Thr His Thr His Ile Val
100          105          110
Ile Pro Tyr Arg Cys Leu Val Gly Glu Phe Val Ser Asp Ala Leu Leu
115          120          125
Val Pro Asp Lys Cys Lys Phe Leu His Gln Glu Arg Met Asp Val Cys
130          135          140
Glu Thr His Leu His Trp His Thr Val Ala Lys Glu Thr Cys Ser Glu
145          150          155          160
Lys Ser Thr Asn Leu His Asp Tyr Gly Met Leu Leu Pro Cys Gly Ile
165          170          175
Asp Lys Phe Arg Gly Val Glu Phe Val Cys Cys Pro Leu Ala Glu Glu
180          185          190
Ser Asp Ser Val Asp Ser Ala Asp Ala Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val
195          200          205
Trp Trp Val Gly Ala Asp Thr Asp Tyr Ala Asp Gly Gly Glu Asp Lys
210          215          220
Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu Val Ala Asp Val Glu Glu Glu
225          230          235          240
Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Val Glu Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu
245          250          255
Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala Thr Glu Arg Thr Thr Ser Thr
260          265          270
Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu Ser Val Glu Glu Val Val Arg
275          280          285
Val Pro Thr Thr Ala Ala Ser Thr Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu
290          295          300
Glu Thr Pro Gly Asp Glu Asn Glu His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys
305          310          315          320
Glu Arg Leu Glu Ala Lys His Arg Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg
325          330          335

```


42/79

Glu Trp Glu Glu Ala Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp
 340 345 350
 Lys Lys Ala Val Ile Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu
 355 360 365
 Gln Glu Ala Ala Asn Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala
 370 375 380
 Arg Val Glu Ala Met Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Asp Leu Glu Asn
 385 390 395 400
 Tyr Ile Ile Ala Leu Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro His His Val Phe
 405 410 415
 Asn Met Leu Lys Lys Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His
 420 425 430
 Thr Leu Lys His Phe Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala
 435 440 445
 Thr Gln Ile Arg Ser Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu
 450 455 460
 Arg Met Asn Gln Ser Leu Ser Leu Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala
 465 470 475 480
 Glu Glu Ile Gln Asp Glu Val Asp Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn
 485 490 495
 Tyr Ser Asp Asp Val Leu Ala Asn Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser
 500 505 510
 Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr
 515 520 525
 Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln
 530 535 540
 Pro Trp His Pro Phe Gly Val Asp Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn
 545 550 555 560
 Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr
 565 570 575
 Thr Arg Pro Gly Ser Gly Leu Thr Asn Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser
 580 585 590
 Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe Gly His Asp Ser Gly Phe Glu Val
 595 600 605
 Arg His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 610 615 620
 Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val
 625 630 635 640
 Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu Lys Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile
 645 650 655
 His His Gly Val Val Glu Val Asp Ala Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg
 660 665 670
 His Leu Ser Lys Met Gln Gln Asn Gly Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys

43/79

675 680 685
 Phe Phe Glu Gln Met Gln Asn
 690 695

<210> 97
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 97
 Ser Glu Pro Arg Ile Ser Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro Ser Leu
 1 5 10 15
 Thr Glu Thr Lys Thr Thr Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly Glu Phe
 20 25 30
 Ser Leu Asp Asp Leu Gln Pro Trp His Pro Ser Gly Val Asp Ser Val
 35 40 45
 Pro Ala Asn Thr Glu Asn Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg Pro Ala
 50 55 60
 Ala Asp Arg Gly
 65

<210> 98
 <211> 983
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 98
 Met Lys Ala Gln Gln Ala Met Asp Lys Tyr Glu Gly Asp Ser Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Glu Thr Arg Ser Thr Ala Ala Met Val Gly Trp Arg Ser Asp Arg
 20 25 30
 Gly Leu Val Thr Cys Thr Arg Leu Arg Met Gln Asn Gly Ser Ser Leu
 35 40 45
 Lys Ala Phe Arg Ser Arg Val Gly Lys Trp Gly Glu Pro Ser Ser Arg
 50 55 60
 Ser His Lys Val Leu Lys Thr Ser Glu Thr Ser Gln Asp Ile Gln Lys
 65 70 75 80
 Val Ser Arg Glu Glu Ser Pro Ser Gln Leu Thr Ser Ala Val Pro Ala
 85 90 95
 Gln Arg Asn Cys Gln Pro Gly Ser Ala Ala Val Ile Asn Met Leu Arg
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Val Arg Ser Pro Trp Thr Asp His His Ile Arg Gln
 115 120 125

44/79

Arg Thr Asp His His Ile Arg Gln Pro Leu Phe Pro Ser Arg Arg Ser
 130 135 140
 Pro Gln Glu Asn Glu Asp Asp Asp Asp Tyr Gln Met Phe Val Pro
 145 150 155 160
 Ser Phe Ser Ser Ser Asp Leu Asn Ser Thr Arg Leu Cys Glu Glu Asn
 165 170 175
 Ala Ser Ser Arg Pro Cys Ser Trp His Leu Gly Leu Ile Glu Pro Thr
 180 185 190
 Glu Ile Ser Ser Ser Gly His Arg Ile Val Arg Arg Ala Ser Ser Ala
 195 200 205
 Gly Glu Ser Asn Ala Cys Pro Pro Glu Val Arg Ile Arg Asp Cys Asp
 210 215 220
 Asp Ser Gln Tyr Cys Pro Gly Arg Gln Leu Gln Asn Ser Pro Arg Pro
 225 230 235 240
 Gly Gly Glu Arg Gly Met Thr Pro Tyr Gly Ser Ser Val Glu Leu Thr
 245 250 255
 Ile Asp Asp Ile Asp His Val Tyr Asp Asn Ile Ser Phe Glu Asp Leu
 260 265 270
 Lys Leu Met Val Ala Lys Arg Asp Glu Thr Glu Cys Ser Phe Ser Lys
 275 280 285
 Pro Ser Arg Asp Ser Val Arg Pro Lys Ser Thr Pro Glu Leu Ala Phe
 290 295 300
 Ser Lys Arg Gln Val Ser His Ser Thr Ser Ser Leu His Ser Arg Lys
 305 310 315 320
 Glu Ala Gly Leu Gly Gly Gln Glu Ala Ser Thr Gln Ser Val His Glu
 325 330 335
 His Gln Glu Val Glu Glu Asn Ile Tyr Asp Thr Ile Gly Leu Pro Asp
 340 345 350
 Pro Pro Ser Met Asn Leu Asn His Ser Ser Leu His Gln Pro Lys Arg
 355 360 365
 Ser Thr Phe Leu Gly Leu Glu Ala Asp Phe Ala Cys Cys Asp Ser Leu
 370 375 380
 Arg Pro Phe Val Ser Gln Asp Ser Leu Gln Phe Ser Glu Asp Asp Ile
 385 390 395 400
 Ser Tyr His Gln Gly Pro Ser Asp Thr Glu Tyr Leu Ser Leu Leu Tyr
 405 410 415
 Asp Ser Pro Arg Cys Asn Leu Pro Ile Ala Asp Lys Ala Leu Ser Asp
 420 425 430
 Lys Leu Ser Glu Glu Val Asp Glu Ile Trp Asn Asp Leu Glu Asn Tyr
 435 440 445
 Ile Lys Lys Asn Glu Asp Lys Ser Arg Asp Arg Leu Leu Ala Ala Phe
 450 455 460
 Pro Val Ser Lys Asp Asp Ala Pro Glu Arg Leu Tyr Val Asp Ser Thr

45/79

465		470		475		480									
His	Glu	Leu	Gly	Arg	Asp	Thr	Gly	His	Ala	Thr	Ser	Met	Leu	Ala	Leu
				485					490					495	
Pro	Thr	Ser	Gln	Thr	Phe	Leu	Leu	Pro	Gly	Lys	Ser	Arg	Val	Val	Arg
			500					505					510		
Ala	Ser	Arg	Ala	Asn	Cys	Ser	Leu	Asp	Asn	Asp	Ile	Ile	Ser	Thr	Glu
		515					520					525			
Gly	Ser	Phe	Leu	Ser	Leu	Asn	Gln	Leu	Ser	Leu	Ala	Ser	Asp	Gly	Pro
		530				535					540				
Pro	Val	Asp	Asn	Pro	Tyr	Asp	Leu	Ala	Asn	Cys	Ser	Leu	Pro	Gln	Thr
545					550					555				560	
Asp	Pro	Glu	Asn	Pro	Asp	Pro	Gly	Met	Glu	Val	Thr	Asp	Lys	Thr	Lys
			565						570					575	
Ser	Arg	Val	Phe	Met	Met	Ala	Arg	Gln	Tyr	Ser	Gln	Lys	Ile	Lys	Lys
		580					585						590		
Val	Asn	Gln	Ile	Leu	Lys	Val	Lys	Ser	Pro	Glu	Leu	Glu	Gln	Pro	Pro
		595					600					605			
Ser	Ser	Gln	His	Arg	Pro	Ser	His	Lys	Asp	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Glu
		610				615					620				
Glu	Lys	Arg	Gln	Gly	Gly	Pro	Ala	Ile	Gly	Ala	Arg	Ile	Ala	Glu	Tyr
625				630					635					640	
Ser	Gln	Leu	Tyr	Asp	Gln	Ile	Val	Phe	Arg	Glu	Thr	Pro	Leu	Lys	Ala
			645						650					655	
Gln	Lys	Asp	Gly	Trp	Ala	Ser	Pro	Gln	Gly	Pro	Thr	Leu	His	Arg	Pro
		660					665						670		
Val	Ser	Pro	Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ala	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Trp	His
		675					680						685		
Ser	Pro	Tyr	Ser	Asn	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Phe	Ser	Pro	Gln	Thr	Glu
		690				695					700				
Gln	Asp	Ser	Lys	Ser	Lys	Tyr	Pro	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser	Thr	Thr	Lys
705					710				715					720	
Ile	Arg	Pro	Arg	Gln	Leu	Ser	Gly	Ala	Cys	Ser	Val	Pro	Ser	Leu	Gln
			725						730					735	
Val	Ser	Asp	Pro	Leu	Leu	Gly	Ser	Val	Gln	Gln	Arg	Cys	Ser	Val	Val
		740					745						750		
Val	Ser	Gln	Pro	His	Lys	Glu	Asn	Ser	Gly	Gln	Ser	Pro	Leu	Tyr	Asn
		755					760						765		
Ser	Leu	Gly	Arg	Lys	Ala	Ile	Ser	Ala	Lys	Pro	Gln	Pro	Tyr	Ser	Arg
		770					775						780		
Pro	Gln	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	Leu	Ile	Asn	Lys	Ser	Leu	Asp	Ser	Ile
785					790					795				800	
Asn	Tyr	Pro	Ser	Glu	Thr	Glu	Thr	Lys	Gln	Leu	Leu	Ser	Ser	Gln	Lys
			805						810					815	

46/79

Ser Pro Arg Gly Ala Ser Gln Gln Asp Leu Pro Ser Gly Leu Ala Asn
 820 825 830
 Ser Cys Gln Gln Asp Arg Gly Lys Arg Ser Asp Leu Thr Leu Gln Asp
 835 840 845
 Ser Gln Lys Val Leu Val Val Asn Arg Asn Leu Pro Leu Ser Ala Gln
 850 855 860
 Ile Ala Thr Gln Asn Tyr Phe Cys Asn Phe Lys Asp Pro Glu Gly Asp
 865 870 875 880
 Glu Asp Asp Tyr Val Glu Ile Lys Ser Glu Glu Asp Glu Val Arg Leu
 885 890 895
 Asp Leu Ser Pro Arg Arg Gly Arg Lys Ser Asp Pro Gln Thr Pro Asp
 900 905 910
 Pro Asp Cys Ser Asp Ser Ile Cys Ser His Ser Thr Pro Tyr Ser Leu
 915 920 925
 Lys Glu Pro Val Ser Gly Arg Leu Gly Leu Pro Pro Tyr Leu Thr Ala
 930 935 940
 Cys Lys Asp Ser Asp Lys Leu Asn Asp Tyr Leu Trp Arg Gly Pro Ser
 945 950 955 960
 Pro Asn Gln Gln Asn Ile Val Gln Ser Leu Arg Glu Lys Phe Gln Cys
 965 970 975
 Leu Ser Ser Ser Ser Phe Ala
 980

<210> 99
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 99
 Phe Met Met Ala Arg Gln Tyr Ser Gln Lys Ile Lys Lys Val Asn Gln
 1 5 10 15
 Ile Leu Lys Val Lys Ser Pro Glu Leu Glu Gln Pro Pro Ser Ser Gln
 20 25 30
 His Arg Pro Ser His Lys Asp Leu Ala Ala Ile Leu Glu Lys
 35 40 45

<210> 100
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 100
 Met Ala Asn Val Ala Asp Thr Lys Leu Tyr Asp Ile Leu Gly Val Pro

47/79

1	5	10	15
Pro Gly Ala Ser Glu Asn Glu Leu Lys Lys Ala Tyr Arg Lys Leu Ala			
20	25	30	
Lys Glu Tyr His Pro Asp Lys Asn Pro Asn Ala Gly Asp Lys Phe Lys			
35	40	45	
Glu Ile Ser Phe Ala Tyr Glu Val Leu Ser Asn Pro Glu Lys Arg Glu			
50	55	60	
Leu Tyr Asp Arg Tyr Gly Glu Gln Gly Leu Arg Glu Gly Ser Gly Gly			
65	70	75	80
Gly Gly Gly Met Asp Asp Ile Phe Ser His Ile Phe Gly Gly Gly Leu			
85	90	95	
Phe Gly Phe Met Gly Asn Gln Ser Arg Ser Arg Asn Gly Arg Arg Arg			
100	105	110	
Gly Glu Asp Met Met His Pro Leu Lys Val Ser Leu Glu Asp Leu Tyr			
115	120	125	
Asn Gly Lys Thr Thr Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asn Val Leu Cys Ser			
130	135	140	
Ala Cys Ser Gly Gln Gly Gly Lys Ser Gly Ala Val Gln Lys Cys Ser			
145	150	155	160
Ala Cys Arg Gly Arg Gly Val Arg Ile Met Ile Arg Gln Leu Ala Pro			
165	170	175	
Gly Met Val Gln Gln Met Gln Ser Val Cys Ser Asp Cys Asn Gly Glu			
180	185	190	
Gly Glu Val Ile Asn Glu Lys Asp Arg Cys Lys Lys Cys Glu Gly Lys			
195	200	205	
Lys Val Ile Lys Glu Val Lys Ile Leu Glu Val His Val Asp Lys Gly			
210	215	220	
Met Lys His Gly Gln Arg Ile Thr Phe Thr Gly Glu Ala Asp Gln Ala			
225	230	235	240
Pro Gly Val Glu Pro Gly Asp Ile Val Leu Leu Leu Gln Glu Lys Glu			
245	250	255	
His Glu Val Phe Gln Arg Asp Gly Asn Asp Leu His Met Thr Tyr Lys			
260	265	270	
Ile Gly Leu Val Glu Ala Leu Cys Gly Phe Gln Phe Thr Phe Lys His			
275	280	285	
Leu Asp Ala Arg Gln Ile Val Val Lys Tyr Pro Pro Gly Lys Val Ile			
290	295	300	
Glu Pro Gly Cys Val Arg Val Val Arg Gly Glu Gly Met Pro Gln Tyr			
305	310	315	320
Arg Asn Pro Phe Glu Lys Gly Asp Leu Tyr Ile Lys Phe Asp Val Gln			
325	330	335	
Phe Pro Glu Asn Asn Trp Ile Asn Pro Asp Lys Leu Ser Glu Leu Glu			
340	345	350	

48/79

Asp Leu Leu Pro Ser Arg Pro Glu Val Pro Asn Val Ile Gly Glu Thr
 355 360 365
 Glu Glu Val Glu Leu Gln Glu Phe Asp Ser Thr Arg Gly Ser Gly Gly
 370 375 380
 Gly Gln Arg Arg Glu Ala Tyr Asn Asp Ser Ser Asp Glu Glu Ser Ser
 385 390 395 400
 Ser His His Gly Pro Gly Val Gln Cys Ala His Gln
 405 410

<210> 101
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 101
 Leu Ser Asn Pro Glu Lys Arg Glu Leu Tyr Asp Arg Tyr Gly Glu Gln
 1 5 10 15
 Gly Leu Arg Glu Gly Ser Gly Gly Gly
 20 25

<210> 102
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 102
 Ala His Ser Phe Ser Val Phe Arg Leu Pro Ser Trp Trp Ile Val Gly
 1 5 10 15
 Trp Trp Ser Lys Gly Gly Val Gly Ser Asp Leu Glu Met
 20 25

<210> 103
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 103
 Pro Asp Ile Lys His Pro Gly Asn Leu Glu His Tyr Ile Lys Arg Val
 1 5 10 15
 Asn Leu Arg Ile Ile Ala Ile Glu Glu Gly Glu Lys Ser Gln Leu Lys
 20 25 30
 Gly Pro Lys
 35

49/79

<210> 104
 <211> 573
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 104
 atgccattga ggcatttagc agacagattg gggcatcttg cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tgaggcatct agcagacaga ctgaggcatc taacagacag actgaggcat 120
 ctagcagaca gactgaagca tctagcagac agactgaaac atctaacaga cagattgggg 180
 catctaacag acagatcatg gcatctaaca gacagattgg ggcatttaac agacagattg 240
 aggcattcta cagacagatt ggggcattcta acagacagac agaggtatct agcagacaga 300
 ttgaggcatc taacagacag attggggcat ctaacagaca aactgaggca tctaacagac 360
 agattggggc atctaacaga cagactgagg catctaacag acagattggg gcatctaaca 420
 gacagactga tgcatttaac agacagactg atgcatctaa cagacagact gaggcattcta 480
 gcagacagac agaggcatct agcagacaga cagaggcatc tagcagacag actgaggcat 540
 ctagcagaca aattgaggca tcagctgcag ctg 573

<210> 105
 <211> 213
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 105
 attgaggcat ctaacagaca gattggggca tctaacagac aaactgaggc atctaacaga 60
 cagattgggc atctaacaga cagactgagg catctaacag acagattggg gcatctaaca 120
 gacagactga tgcatttaac agacagactg atgcatctaa cagacagact gaggcattcta 180
 gcagacagac agaggcatct agcagacaga ctg 213

<210> 106
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 106
 gacaaactga ggcatttaac agacagattg gggcatctaa cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgatgcat 120
 ctaacagaca gactgaggca tctagcagac agacagaggc acgac 165

<210> 107
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

50/79

<400> 107

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcattcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcatac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 108

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 108

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcattcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcatac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 109

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 109

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcattcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcatac taacagatag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 110

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 110

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcattcta 60
acggacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcatac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 111

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 111

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcattcta 60

51/79

acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgagacat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 112

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 112

gacagattgg ggcgtctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 113

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 113

gacagattgg ggcgtctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 114

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 114

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggtattctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

<210> 115

<211> 135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 115

gacagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta 60
acagacagac tgatgcatct aacagacaga ctgacgcac taacagacag actgaggcat 120
ctagcagtca gacag 135

52/79

<210> 116
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 116
 gacagattgg ggcattctaac agacagactg aagcatctaa cagacagatt ggggcatcta 60
 acagacagac tgatccatct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
 ctagcgtca gacag 135

<210> 117
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 117
 ggcagattgg ggcattctaac agacagactg aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta 60
 acagacagac tgatgcattct aacagacaga ctgatgcac taacagacag actgaggcat 120
 ctagcgtca gacag 135

<210> 118
 <211> 114
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 118
 gacagattga ggcattctagc agacagactg aggcattctaa ccgacagact gaggcattcta 60
 gcagacagac tgaagcatct agcagacaga ctgaaacac taacaaacag aaag 114

<210> 119
 <211> 552
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 119
 atgccattga ggcattctagc agacagattg gggcattctgg cagacagact gaggcattcta 60
 acagacagat tgaggcatct agcagacaga ctgaggcatc taacagacag actgaggcat 120
 ctagcagaca gactgaggca tctagcagac agactgaaac atctaacaga cagattgggg 180
 catctaacag acagatcatg gcatctaaca gacagattgg ggcattctaac agacagattg 240
 aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac agaggatct agcagacaga 300
 ttgaggcatc taacagacag attggggcat ctaacagaca gactgaggca tctaacagac 360
 agattggggc atctaacaga cagactgagg catctaacag acagattggg gcatctaaca 420
 gacagactga tgcattctaac agacagactg aggcattctag cagacagaca gaggcattcta 480

53/79

gcagacagac agaggcatct agcagacaga ctgaggcatc tagcagacaa attgaggcat 540
cagctgcagc tg 552

<210> 120
<211> 237
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 120
gaaaaagtga aaaccttgaa agcgcaaaac tccgagctgg catccacggc caacacgctc 60
agggaacagg tggcactgct taagcagaaa gtcataaacc acgttaacag tgggtgccaa 120
ctcatgctaa cgcagcagtt gcaaacgttt tgggaacaga ctgtcagggc tgaggggcaa 180
tggaagaaaa aaaataacag agacaaactt gagaacttga ctggttgcca cagagaa 237

<210> 121
<211> 228
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 121
cggatcaagg cagagaggaa gcgcatgagg aaccgcattg ccgcctccga gtgccggaaa 60
aggaagctgg agcggatcgc tcggctagag gaaaaagtga aaaccttgaa agcgcaaaac 120
tccgagctgg catccacggc caacatgctc aggaacagg tggcacagct taagcagaaa 180
gtcatgaacc acgttaacag tgggtgccaa ctcatgctaa cacagcag 228

<210> 122
<211> 149
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 122
gggcatctgg cagacagact gaggcattta acagacagat tgaggcatct agcagacaga 60
ctgaggcatc taacagacag actgaggcat ctagcagaca gactgaggca tctagcagac 120
agactgaaac atctaacaga cagatatgg 149

<210> 123
<211> 168
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 123
catctaacag acagactgag gcatctaaca gacagattgg ggcatttaac agacagactg 60
aggcatctaa cagacagatt gaggcattta acagacagac tgatgcatct aacagacaga 120

54/79

ctggggcatc tagcagacag acagaggcat ctagcagaca gacagaga 168

<210> 124

<211> 132

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 124

gcagacagat tggggcatct ggcagacaga ctgaggcatc taacagacag attgaggcat 60

ctagcagaca gactgaggca tctaacagac agactgagge atttagcaga cagactgagg 120

catctagcag ac 132

<210> 125

<211> 132

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 125

gcagacagat tggggcatct ggcagacaga ctgaggcatc taacagacag attgaggcat 60

ctagcagaca gactgagaca tctaacagac agactgagge atttagcaga cagactgagg 120

catctagcag ac 132

<210> 126

<211> 81

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 126

gcagacagac tgaggcatct aacagacaga ttgaggcatc tagcagacag actgaggcat 60

ctaacagaca gactgaggca c 81

<210> 127

<211> 159

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 127

acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgaggcatc taacagacag attggggcat 60

ctaacagaca gactgaggca tctaacagac agattggggc atctaacaga cagactgatg 120

catctaacag acagactgag gcatctagca gacagaccg 159

<210> 128

<211> 138

55/79

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 128

agacagaggc atctaacaga cagactgagg catctaacag acagattggg gcatctaaca	60
gacagactga ggcattctaac agacagattg gggcatctaa cagacagact gatgcatcta	120
acagacagac tgaggccc	138

<210> 129

<211> 117

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 129

gacagattga gccatctagc agacagactg aggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgaggcatc tagcagacag acagagg	117

<210> 130

<211> 117

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 130

gacagattga ggcattctagc agacagactg aggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgaggcatc tagcagacag acagagg	117

<210> 131

<211> 117

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 131

ggcagattga ggcattctagc agacagactg aggcattctaa cagacagact gaggcattcta	60
acagacagat tggggcatct aacagacaga ctgaggcatc tagcagacag acagagg	117

<210> 132

<211> 129

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 132

tattctagcag acagattgag gcatctaaca gacagattgg ggcattctgac agacaggctg	60
aggcatctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac tgaggcatct aacagacaga	120

56/79

ttggggcaa 129

<210> 133
 <211> 129
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 133
 tatctagcag acagattgag gcatctaaca gacagattga ggcattctaac agacaggctg 60
 aggcattctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac tgaggcatct aacagacaga 120
 ttggggcaa 129

<210> 134
 <211> 228
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 134
 cggatcaagg cagagaggaa ggcattgagg aaccgcattg ccgcctccaa gtgccggaaa 60
 aggaagctgg agcggatcgc tcggctagag gaaaaagtga aaacctgaa agcgcaaac 120
 tccgagctgg catccacggc caacatgctc agggaacagg tggcacagct taagcagaaa 180
 gtcattgaacc acgttaacag tgggtgccaa ctcatgctaa cacagcag 228

<210> 135
 <211> 132
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 135
 ttggggcatc taacagacag actgaggcat ctaacagaca gattggggca tctaacagac 60
 agactgatgc atctaacaga cagactgagg catctagcag acagacagag gcatctagca 120
 gacagacaga aa 132

<210> 136
 <211> 108
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 136
 ttggggcatc taacagacag actgaggcat ctaacagaca gattggggca tctaacagac 60
 agactgatgc atctaacaga cagactgagg catctagcag acaccag 108

<210> 137

57/79

<211> 132

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 137

gggcatctaa cagacagact gaggcatcta acggacagat tggggcatct aacagacaga	60
ctgaggcatc taacagacag attggggcat ctaacagaca gactgatgca tctaacagac	120
agactgaggc ac	132

<210> 138

<211> 132

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 138

gggcatctaa cagacagact gaggcatcta acagacagat tggggcatct aacagacaga	60
ctgaggcatc taacagacag attggggcat ctaacagaca gactgatgca tctaacagac	120
agactgaggc ac	132

<210> 139

<211> 153

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 139

aggcatctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac tgaggcatct aacagacaga	60
ttggggcatc taacagacag actgatgcat ctaacagaca gactgaggca tctagcagac	120
agacagaggc atctagcaga caggcagagg cac	153

<210> 140

<211> 153

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 140

aggcatctaa cagacagatt ggggcatcta acagacagac tgaggcatct aacagacaga	60
ttggggcgtc taacagacag actgatgcat ctaacagaca gactgaggca tctagcagac	120
agacagaggc atctagcaga cagacagagg cac	153

<210> 141

<211> 1752

<212> DNA

<213> Mus musculus

58/79

<400> 141

atgtcccatc	aacctctgag	ctgcctgact	gagaaggggg	acagcccttg	tgagacccca	60
ggaaatggac	cctccaatat	ggttcacccc	agcctggaca	cattcacccc	tgaggagctg	120
ctgcagcaaa	tgaaggaact	cctggttgag	aaccaccagc	tgaagaagc	catgaagcta	180
aataatcaag	ctatgaaagg	gcgatttgag	gagctgtccg	cctggacaga	gaagcagaag	240
gaagagcgcc	tgttgtttga	gatgcaaagc	aaagaggtta	aggagcgctt	taaggccctg	300
actcatgaaa	atgagaggct	gaaggaagag	cttgaaaaat	tcaaagagaa	atcagaaaag	360
ccattggaag	acctcacagg	tggctacagg	tatcccagag	ccttggagga	ggaagtggag	420
aagctgaaga	cccagggtga	gcaggaagtg	gagcatctga	agatccaggt	gatgcgcctt	480
cgggctgaaa	aggcagacct	gctgggcatc	gtctcagaac	tcagctcaa	actcaactcc	540
ggcggctcct	cgaagactc	cttcgttgag	atcaggatga	ccgaaggaga	gactgaaggg	600
gcaatgaagg	agatgaagaa	ctgccctaca	cccacaagaa	cagaccccat	cagcttgagc	660
aactgtacag	aggatgccag	gagttgtcgc	gagtttgaag	aactgactgt	gagccagctt	720
ctgctttgcc	taagggaagg	aaaccaaag	gtggagagac	ttgaagtgc	cctcagagaa	780
gccaaagaaa	gaatttcaga	ttttgaaaag	aaagcaaatg	gccattcttc	tactgagaag	840
cagacagcga	ggagagcaga	cagagagaag	gaggacaaag	gccaagagag	tgttggaagc	900
gaagtggaaa	cactgagcat	tcaagtgacc	tctctgttta	aggagcttca	agaggcacac	960
acaaaactca	gtgaggctga	gctgatgaag	aagagacttc	aagaaaagtg	tcaggctctg	1020
gagaggaaga	actctgcaac	accatcagag	ctgaatgaaa	agcaagagct	cgtttacagt	1080
aacaagaagt	tagagctgca	ggtggagagc	atgcgctccg	aatcaagat	ggagcaggcc	1140
aagacagagg	aggagaagtc	caggttagcc	actctgcagg	caactcaca	caagctcctt	1200
caagaacata	ataaggcact	gaaaacaatt	gaagaactaa	ccaagcaaca	ggcagaaaag	1260
gtggacaaga	tgttgctgca	ggagctcagc	gagaagctgg	agctggcaga	gcaggctctg	1320
gcacccaaac	agctccagat	ggatgagatg	aagcagacgc	tcgctaagca	ggaggaagac	1380
ctggagacca	tggccgtcct	cagggtcag	atggaggtgt	actgctcaga	ttttcacgct	1440
gagagagcag	caagagagaa	gattcatgaa	gaaaaggagc	agctggcctt	gcagctcgcg	1500
attttctga	aagagaacaa	tgacattgaa	gagggaggca	gtagacagtc	cctgatggaa	1560
atgcagtgcc	gacacggggc	aagaaccagt	gactctgacc	agcagactta	cctgtttcaa	1620
agaggagccg	aggacaggag	ctggcagcac	gggcagcagc	ctcgcagtat	tccgattcac	1680
tcctgccccca	agtgcgggga	ggctctgccc	gacatcgaca	cgcttcagat	ccatgtgatg	1740
gactgcatca	tt					1752

<210> 142

<211> 324

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 142

ctgaagacc	aggtggagca	ggaagtggag	catctgaaga	tccaggtgat	gcgccttcgg	60
gctgaaaagg	cagacctgct	gggcacgtc	tcagaactgc	agctcaaact	caactccggc	120
ggctcctcgg	aagactcctt	cgttgagatc	aggatgaccg	aaggagagac	tgaaggggca	180
atgaaggaga	tgaagagctg	ccctacaccc	acaagaacag	accccatcag	cttgagcaac	240

59/79

tgtacagagg atgccaggag ttgtgcggag tttgaagaac tgactgtgag ccagcttctg 300
ctttgcctaa gggaaggaaa ccaa 324

<210> 143
<211> 186
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 143
catctgaaga tccaggtgat ggccttcgg gctgaaaagg cagacctgct gggcatcgtc 60
tcagaactgc agctcaaact caactccggc ggctcctcgg aagactcctt cgttgagatc 120
aggatgaccg aaggagagac tgaaggggca atgaaggaga tgaagaactg ccctacaccc 180
acaaga 186

<210> 144
<211> 186
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 144
catctgaaga tccaggtgat ggccttcgg gctgaaaagg cagacctgct gggcatcgtc 60
tcagaactgc agctcaaact caactccggc ggctcctcgg aagactcctt cgttgagatc 120
aggatgaccg aaggagagac tgaaggggca atgaaggaga tgaagaactg ccctgcaccc 180
acaaga 186

<210> 145
<211> 186
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 145
catctgaaga tccaggtgat ggccttcgg gctgaaaagg cagacctgct gggcatcgtc 60
tcagaactgc ggctcaaact caactccggc ggctcctcgg aagactcctt cgttgagatc 120
aggatgaccg aaggagagac tgaaggggca atgaaggaga tgaagaactg ccctacaccc 180
acaaga 186

<210> 146
<211> 306
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 146
atgttgagtc gactgcagga gctccgcaag gaggaggaaa ccctgctgcg tctaaaggcg 60

60/79

gctctacacg accaactgaa cgcctcaag gttgaagaat tagcccttca atccatgata	120
aattctcgag gaaggaccga gacactgtct tctcagcctg cacctgaaca gttatgtgat	180
atgtccctac atgtagacaa cgaagtgaca ataaatcaga ctacactgaa gctgagcaca	240
aggagcccta tggaagaaga ggaggaggaa gaggaggagg aaggaggaga ggaagaatct	300
gattcg	306

<210> 147

<211> 249

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 147

gccctaagga agtgaagg gattgtgagt cgactgcagg agctccgcaa ggaggtggaa	60
accctgctgc gtctaaaggc ggctctacac gaccaactga accgcctcaa gttgaagaa	120
ttagcccttc aatccatgat aaattctcga ggaaggaccg agacactgtc ttctcagcct	180
gcacctgaac agttatgtga tatgtcccta catgtagaca acgaagtgc aataaatcag	240
actaggccg	249

<210> 148

<211> 237

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 148

aggaagtgga aggggacgtt gattcgactg caggagctcc gcaaggaggt ggaaaccccg	60
ctgcgtctaa aggcggctct acacgaccaa ctgaaccgcc tcaagggtga agaattagcc	120
cttcaatcca tgataaatc tcgaggaagg accgagacac tgtcttctca gcctgcacct	180
gaacagttat gtgatatgtc cctacatgta gacaacgaag tgacaataaa tcagact	237

<210> 149

<211> 1239

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 149

atgggagacg acagaccgtt tgtgtgcagt gccccgggct gtggacagag atttacaat	60
gaggaccacc tggcagttca taaacataag catgagatga cactgaaatt tggcccagcc	120
cgaacggact cagtcacat tgcagatcaa acgcctactc caactagatt cctgaagaac	180
tgtgaggaag tggggctctt caatgaacta gctagctcct ttgaacatga atttaagaaa	240
gcttctgatg acgatgagaa aaagggtgct gctgggcctc ttgacatgtc tctgccttct	300
acaccagaca tcaaatcaa ggaagaagag ccagtggag tagactcatc gccccctgac	360
agtctgtctt ctagccctg tccccacca ctgaaggaga aggaagttac cacaaaaccg	420
gttgtgatct ctaccctac acctaccatt gtacgtctg gctccctgcc tctccactta	480

61/79

```

ggttatgata cacttcatcc aactcttctt tccccaacct ctgtcatcac acaggtccca 540
ccatccaaca ggcaaatagg atctctact ggctccctcc ctctcgtcat gcatcttget 600
aatggacaga ccatgcctat gttgccagg cctccagtac agatgccttc tgttatttcg 660
ctggccagac ctgtgtccat ggtgcccac attcctggta tacctggccc accggttaac 720
aacagtggct ccatttctcc ctctggccac cctatgccgt cagaagccaa aatgagacta 780
aaagccacgc tgaccatca agtttcttca atcaatggag gttgtggaat ggtgggtgggt 840
actgcaagca ccatgggtgac tgcccgccca gagcaaaacc agatcctcat ccagcaccca 900
gatgccccat cccctgcccc gccacaggtc tctccagctc agcccacccc tagcactggg 960
ggacggcgac ggcgtagagt ggatgaagat ccagatgagc ggcggcagcg gtttttagag 1020
cgaaacagag ctgcagcctc tcgatgccgg caaaagcgga aactgtgggt gtcctccctg 1080
gaaaagaagg cagaagaact tacttctcag aacattcagc tgagtaatga agtcacatta 1140
ctacgcaatg aggtggctca gctgaagcag ctactgttag ctcataaaga ttgccagtc 1200
actgcactac agaaaaagac tcaaggctac ctaggtaag 1239

```

<210> 150

<211> 168

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 150

```

cgatgccgcg aaaagcgga actgtgggtg tcctccctgg aaaagaaggc agaagaactt 60
acttctcaga acattcagct gagtaatgaa gtcacattac tacgcaatga ggtggctcag 120
ctgaagcagc tactgttagc tcataaagat tgtccagtc cgcacaaa 168

```

<210> 151

<211> 3093

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 151

```

atgacaaacc caaaaggaaa gaggagaggt actcagtcta tggtctctag gccttttagg 60
aaacatggag ttgtttcttt ggccacatac atgcgaatct acaagaagcg tgatattgta 120
gacatcaagg gaatgggcac tggtcaaaaa ggaatgccct gtaagtgtta ccacggcaaa 180
accggaagag tctacaatgt caccagcat gccatgggca tcattgtaaa caagcaagtt 240
aaaggcaaga ttctggccaa gaggatcaat gtgcagattg agcacatcaa gcaactgaag 300
agcagagacg gcttctgaa gcaggagag gccgccatt tcgaatacct gctgtaccca 360
cttactcag cgtccatcac gggcctggcc acctgcatcc gaaaaccct cattgccacc 420
tgetccctgg atcgtccgt tcgcatctgg aattacagat cgaattcctc ctgctgcaag 480
gctctcagag aagaccttg gctcctctc cttttccaca tcaactgccc ggccaccctt 540
agctcccccac cagtgatatt cttctgcaca ctggagctat ataaggaata ccaagaagag 600
gcctacacgg tcagccttca cccctccgga cactacattg tggtgggggt tgctgacaaa 660
cttcgcctta tgaacctgct cattgatgac atccgttctt tcaaagaata ttctgtcaga 720
ggatgcaaaag agtgtgcctt tagcaatgga ggtcacctgt ttgctgccgt caatggtaat 780

```

62/79

gtgattcaca	tcttcaccac	cacgaacctg	gagaatatca	acaacctgaa	aggccacaca	840
gggaagaggg	agacagagt	tgtactcaag	gtctgtagtt	acaactcgg	cactatctcc	900
cctgacggca	aagttatctt	cgctgttgga	tcagaccaga	ctcttaagga	gatgcgcgat	960
tctttgatcc	ttcgagagat	accagcattt	gatgtcgtct	acacggccat	caccatctca	1020
cattccggac	gcatgatatt	cgtgggcact	tcagtgggga	ctatccgtgc	catgaagtac	1080
ccgtgcctc	tgcagagaga	attcaatgag	taccaggctc	acgtggccc	cgtcacgaag	1140
atactgctca	ccttcgatga	ccagttcctg	ctgacggctt	ctgaggatgg	ctgcctgttc	1200
acctggaaag	tctttgataa	ggagggtcgg	ggaatcaaac	gagagaggga	ggtgggcttt	1260
gctgaagagg	tactcgtgac	taagacagac	atggaggaga	agatactcca	caggaaactta	1320
gcaacggaat	tcagaaggcc	aatgagcaag	caccttgagt	gtcccacatc	ggaaactggg	1380
ccactcacia	caataaatat	ctcccgggtc	cagcccaggc	cttggggcca	tgtactcacc	1440
tgcagaacac	ccgtcagcac	tgacagtgtc	gttgctgcta	caagaggctc	tgtggacagc	1500
gcagtgaagc	cagataggtc	aactccaacc	caggaagtcc	gcacccacc	aaagccagcc	1560
tcgggagtc	acaccaggtg	ccagttagga	gtacagaaac	agatggaaca	cgtttctgtt	1620
gtcatggagg	tacgagaaac	aaaccggcag	agacagggtg	gggtgcgcg	gaatgtaatc	1680
aaggctcaga	tcattgctga	gctgaagacg	cgtgtagagg	aactgaaaat	ggagaacgag	1740
tatcagctcc	ggctgaagga	catgaactac	tcagagaaga	tcaaggagct	gacagacaag	1800
ttcatccagg	agatggagtc	cttgaagacg	aagaaccagg	ttttaaaaac	agagaaagaa	1860
aaacaggaca	tcagtcaccg	agagcactta	gaagacctca	tagaaagaca	gagccgggag	1920
ctgcaagacc	tggaatgttg	taacaaccag	aagctgctcc	ttgaatacga	gaagtaccag	1980
gagctgcagc	tcaagtccca	gaggatgcag	gaggagtacg	aaaaacagct	ccgagacaat	2040
gatgagacca	agagccaagc	actggaggag	ctgaccgagt	tctacgaggc	caaactccag	2100
gagaaaaccg	gccttctgga	agaggccctc	agcacagcag	cctcaccacc	ccttcctcca	2160
gcacacgttc	tctctccctt	cccactctg	agccaggcac	aggaagatgt	ccgacagcag	2220
ctccgggaat	tcgaggaaac	caagaagcag	attgaagaag	atgaggacag	ggagatccaa	2280
gacatcaaaa	ccaagtatga	gagaaagctt	cgagatgaaa	aggagtccaa	ccttcggctt	2340
aaggggagaaa	caggaatcat	gaggaagaag	ttcagcagcc	tgcagaagga	gatcgaagag	2400
cgcaccaatg	acatcgagct	cctcaaaacg	gagcagggtg	agctgcaggg	ggtcatcagg	2460
tccctagaga	aggacatcca	aggactcaag	agagagatcc	aggagaggga	tgagaccatt	2520
caagacaagg	agaagcgaat	ttatgatctg	aagaagaaga	accaagagtt	agagaaattc	2580
aaatttgtcc	ttgactacaa	aataaaggaa	ctgaagaagc	aaatagaacc	aaggggagaac	2640
gagatcaaag	tgatgaagga	gcagatccag	gagaacctg	tcaatcactg	gctcagaagc	2700
agggagagag	aatgtgtcac	acagccaagg	catctgcggc	ttccagctcc	ccagaacaag	2760
ttagatggga	atttagcttg	tggaccggta	agaggtcggt	tgtgccactc	agacgcgacc	2820
tcaggggccc	tgaatgttca	gggcacacct	tgtctcttcc	acctgccatt	tccctgtgat	2880
aggacgccat	ctttcttccc	cggagaagct	tgtctcctgg	ttttctctct	tctgatagat	2940
gttctatgta	gaccacctc	tgacgtacca	gtcgtgctg	gcgattttct	tccgtgtggc	3000
ggacctctgc	acttgccctc	agagctgcac	caccttacag	tcattccggac	caatgccagc	3060
ccacagaaat	gtacccacc	caccagtcct	ctg			3093

<210> 152

<211> 210

<212> DNA

63/79

<213> Mus musculus

<400> 152

aagaagttca gcagcctgca gaaggagatc gaagagcgca ccaacgacat cgagctcctc	60
aagtcggagc ggatgaagct gcagggcatc atcagatccc tggagaaaga catccaaggg	120
ctcaagagag agatccagga gagggacgag accattcaag acatggagaa gcttgactac	180
aaggacgatt ataattcaaa cctagagatc	210

<210> 153

<211> 168

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 153

aagaagttca gcagcctgca gaaggagatc gaagagcgca ccaacgacat cgagctcctc	60
aagtcggagc ggatgaagct gcagggcatc atcagatccc tggagaaaga catccaaggg	120
ctcaagagag agatccagga gagggacgag accattcaag acatggag	168

<210> 154

<211> 651

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 154

atggaagtag aaaacgaagc ccactgctgc cctggcagct catcaggcgg gtccagagag	60
tacaaggtgg taatgctggg cgcagggggc gtttgtaaaa gcgcagtcac aatgcagttt	120
ataagccacc agttcccgga ctatcacgac cccacaatcg aagatgctta taaaaccag	180
gtgaggattg ataatgagcc tgcttactta gacatcttgg aactgctgg tcaggcagag	240
ttcacggcca tgcgggagca gtacatgcgt gggggagagg gttcatcat ctgctattct	300
gtcactgacc gccagtcatt ccaggaggct gccaagttca aggagcttat tttccaggtc	360
cgtcacacct atgaaattcc ccttgtgcta gtgggtaaca aaattgactt ggagcagttc	420
cgtcaggat ctacagaaga aggcataaat cttgctcgag actacaactg tgccttcttt	480
gagacatctg cagccctgcg attcggatc gatgatgctt ttcaaggctt agtgagagaa	540
attcgcagga aggaatccat gctgtccttg gtggaaagga aattgaagag gaaggacagc	600
ctgtggaaga agataaaagc ctccctgaag aagaagagag aaaacatgtt g	651

<210> 155

<211> 150

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 155

gcagccctgc gattcggat c gatgatgct cttcaaggct tagtgagaga aattcgcagg	60
---	----

64/79

aaggaatcca tgctgccctt ggtggaaagg aaattgaaga ggaaggacag cctgtggaag 120
 aagataaaaag cctccctgaa gaagaagagg 150

<210> 156
 <211> 420
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 156
 ggtgccacag ttattacaaa ctcctatca gccatcccat atattggaac aaccctagtc 60
 gaatgaattt gagggggctt ctcagtagac aaagccacct tgaccgatt cttcgcttc 120
 cacttcatct taccatttat tategcgcc ctagcaatcg ttcacctct cttctccac 180
 gaaacaggat caaacaaccc aacaggatta aactcagatg cagataaaat tccatttcac 240
 ccctactata caatcaaaga tatectaggt atcctaata tattcttaat tctcataacc 300
 ctagtattat ttttcccaga catactagga gaccagaca actacatacc agctaacca 360
 ctaaacaccc caccctatat taaaccgaa tgatatttcc tatttgcata cgccattcta 420

<210> 157
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 157
 tcagatgcag ataaaattcc atttcacccc tactatacaa tcaaaaatat cctaggtatc 60
 ctaatcatat tcttaattct cataacccta gtattatttt tcccagacat actaggagac 120
 cca 123

<210> 158
 <211> 933
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 158
 atgaaggctc tgtgggccgt gctgttggtc acattgctga caggatgcct agccgagga 60
 gagccggagg tgacagatca gctcgagtgg caaagcaacc aaccctggga gcaggccctg 120
 aaccgcttct gggattacct gcgctgggtg cagacgctgt ctgaccaggt ccaggaagag 180
 ctgcagagct cccaagtcac acaagaactg acggcactga tggaggacac tatgacggaa 240
 gtaaaggctt acaaaaagga gctggaggaa cagctgggtc cagtggcgga ggagacacgg 300
 gccaggcttg gcaaagaggt gcaggcggca caggcccgac tcggagccga catggaggat 360
 ctacgcaacc gactcgggca gtaccgcaac gaggtgcaca ccatgctggg ccagagcaca 420
 gaggagatac gggcgcggt ctcacacac ctgcgcaaga tgcgcaagcg cttgatgcgg 480
 gatgccgatg atctgcagaa gcgcctagct gtgtacaagg caggggcacg cgaggcgcc 540
 gagcgcggtg tgagtgccat cgtgagcgc ctggggcctc tggtaggca aggtcgccag 600

65/79

cgcactgcc	acctaggcg	tggggccgc	cagcctctg	gcgatcgcg	ccaggctttt	660
ggtgaccgc	tccgagggc	gctggaggaa	gtgggcaacc	aggcccgtga	ccgcctagag	720
gaggtgcgt	agcacatgga	ggaggtgcgc	tccaagatgg	aggaacagac	ccagcaaata	780
cgctgcagg	cggagatctt	ccaggccgc	ctcaagggt	ggttcgagcc	aatagtggaa	840
gacatgcac	gccagtgggc	aaacctgatg	gagaagatac	aggcctctgt	ggctaccaac	900
cccatcatca	ccccagtggc	ccaggagaat	caa			933

<210> 159

<211> 90

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 159

acggaagtaa	aggcttaca	aaaggagctg	gaggaacagc	tgggtccagt	ggcggaggag	60
acacggggcca	ggctgggcaa	agaggagcag				90

<210> 160

<211> 2085

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 160

atgctgccc	gcttggcact	gtcctgctg	gccgcctgga	cggttcgggc	tctggaggt	60
cccactgatg	gcaacgccgg	gctgctggca	gaaccccaga	tcgccatgtt	ctgttgtaaa	120
ctcaacatgc	acatgaatgt	gcagaatgga	aagtgggagt	cagaccgctc	agggacccaa	180
acctgcattg	gcaccaagga	gggcatcttg	cagtactgcc	aagaggctta	ccctgaactg	240
cagatcacaa	acgtggtgga	agccaaccag	ccagtgacca	tccagaactg	gtgcaagcgg	300
ggccgcaagc	agtgcagac	acacaccac	atcgtgattc	cttaccgttg	cctagtgtgt	360
gagtttgta	gcgacgccct	tctcgtgcc	gacaagtgc	agttcctaca	ccaggagcgg	420
atggatgttt	gtgagacca	tcttactg	caacccgtcg	ccaaagagac	atgcagcgag	480
aagagcacta	acttgcacga	ctatggcatg	ctgctgccct	gcggcatcga	caagttccga	540
ggggtagagt	ttgtatgctg	cccgttgcc	gaggaaagcg	acagcgtgga	ttctgcggat	600
gcagaggagg	atgactctga	tgtctggtgg	gttgagcgg	acacagacta	cgctgatggc	660
ggtgaagaca	aagtagtaga	agtcgccga	gaggaggaag	tggctgatgt	tgaggaagag	720
gaagctgatg	atgatgagga	tgtggaggat	ggggacgagg	tggaggagga	ggccgaggag	780
ccctacgaag	aggccaccga	gagaacaacc	agcactgcca	ccaccaccac	aaccaccact	840
gagtcctgtg	aggaggtggt	ccgagttccc	acgacagcag	ccagcacccc	cgacgccgtc	900
gacaagtacc	tggagacacc	cggggacgag	aacgagcatg	cccatttcca	gaaagccaaa	960
gagaggctgg	aagccaagca	ccgagagaga	atgtcccagg	tcatgagaga	atgggaagag	1020
gcagagcgtc	aagccaagaa	cttgcccaaa	gctgacaaga	aggccgttat	ccagcatttc	1080
caggagaaa	tggaatctct	ggaacaggaa	gcagccaatg	agagacagca	gctttagtag	1140
acacacatgg	ccagagttga	agccatgctc	aatgaccgcc	gccgcctgga	cctcgagaat	1200
tacatcatcg	cactgcaggc	ggtgccccca	aggcctcacc	atgtgttcaa	catgctgaag	1260

66/79

```

aagtacgtcc gtgcggagca gaaagacaga cagcacaccc taaagcattt tgaacatgtg 1320
cgcatgggtgg accccaagaa agctactcag atccgggtccc aggttatgac acacctccgt 1380
gtgatctacg agcgcagtaa ccagtctctg tccctgctct acaatgtccc tgcgggtggct 1440
gaggagattc aagatgaagt cgatgagctg cttcagaagg agcagaacta ctccgacgat 1500
gtcttggcca acatgatcag tgagcccaga atcagctacg gaaacgacgc tctcatgcct 1560
tcgctgacgg aaaccaagac caccgtggag ctccctcccg tgaatgggga attcagcctg 1620
gatgacctcc agcgtggca cccctttggg gtggactctg tgccagccaa taccgaaaat 1680
gaagtcgagc ctgttgacgc ccgcccgcct gctgaccgag gactgaccac tcgaccaggt 1740
tctgggctga caaacatcaa gacggaagag atctcggaag tgaagatgga tgcagaattc 1800
ggacatgatt caggatttga agtccgccat caaaaactgg tgttctttgc tgaagatgtg 1860
ggttcgaaca aaggcgccat catcggaact atggtgggag gcgttgatcat agcaaccgtg 1920
attgtcatca ccttggtgat gttgaagaag aaacagtaca catccatcca tcatggcgtg 1980
gtggaggtcg acgcgcgctg gacccagag gagcgccatc tctccaagat gcagcagaac 2040
ggatatgaga atccaactta caagttcttt gagcaaatgc agaac 2085

```

<210> 161

<211> 201

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 161

```

agttagccca gaatcagcta cggaaacgac gctctcatgc cttcgtgac ggaaaccaag 60
accaccgtgg agtccttcc cgtgaatggg gaattcagcc tggatgacct ccagccgtgg 120
cacccttctg ggggtggaact tgtgccagcc aataccgaaa atgaggtcga gcctgttgac 180
gcccgccccg ctgctgaccg a 201

```

<210> 162

<211> 1236

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 162

```

atggcgaacg tggccgacac gaagctgtac gacatcctgg gcgtccctcc cggcgctagc 60
gagaacgagc tgaagaaggc ataccgaaag ttagccaaag aataccaccc tgataagaat 120
ccaaatgctg gagacaaatt taaagaaata agttttgcat atgaagtatt gtcaaatcca 180
gagaagcgag agctgtatga cagatatgga gaacaaggcc tacgggaagg cagcggcgga 240
ggcgggtggaa tggatgatat cttctcacat atttttgtg gaggattgtt tggctttatg 300
ggcaatcaga gtagaagtcg aaatggcaga agaagaggcg aggacatgat gcattcacta 360
aaagtatctt tagaagacct gtacaatggc aagacaacca aactacaact tagcaagaat 420
gtgctctgta gtgcatgcag tggccaaggt gggaagtctg gagctgttca gaaatgcagc 480
gcttgtcggg gtcgaggtgt gcgcattatg atcagacagc tggctccagg aatggtgcag 540
cagatgcagt ccgtgtgctc cgactgtaat ggagaagggg aggtcatcaa tgaaaaagac 600
cgctgtaaaa aatgtgaagg gaagaaggta atcaaaagag tcaagattct ggaagtccat 660

```

67/79

gtagacaaag gcatgaaaca tggacagagg attacgttca ctggggaagc agaccaggct	720
ccaggagtgg aacctggaga tattgttctt ttgtacagg aaaaagaaca tgagggtgttc	780
cagagagatg ggaatgattt gcatatgaca tataagatag gacttgttga agctttatgt	840
ggatttcagt tcacatttaa acatcttgat gctcgtcaga ttgtggtgaa atacccccct	900
ggcaaagtaa ttgaaccagg atgtgttcgt gttgttcgag gtgaaggaaat gccacagtat	960
cgtaatccct ttgaaaaggg tgatctttac ataaagtttg atgtacagtt tcctgagaat	1020
aactggatca acccagacaa actttctgaa ttagaagate tcctgccatc tagaccagaa	1080
gttctaatg ttattggaga gacagaagaa gtggagcttc aggaatttga tagcactcga	1140
ggctctggcg gtggtcagag acgtgaagcc tataatgata gctctgatga agaaagtagc	1200
agccatcatg gacctggagt gcagtgtgcc catcag	1236

<210> 163

<211> 75

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 163

ttgtcaaadc cagagaagcg agagctgtat gacagatatg gagaacaagg cctacgggaa	60
ggcagcggag gaggc	75

<210> 164

<211> 2949

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 164

atgaaggctc agcaggccat ggacaaatat gaaggagata gcaaggcgag ggagaccggg	60
agcacagcgg ccatggtagg ctggagaagt gacagaggcc tggtagcttg caccaggctt	120
aggatgcaga atggtagctc actaaaagct tticggagca ggggtgggaa gtggggagaa	180
ccttcctcga gatcacacaa agtgttgaag accagcgaaa cttcacaaga tatccagaag	240
gtttctagag aggaaagccc ttcccagctg acttctgccg tgcctgccca gaggaactgc	300
cagcccggca gcgctgccgt tatcaatatg cttcgcgggg gaggcggtgt tagaagccca	360
tggacagatc accacatcag gcagcggacg gatcaccaca tccggcagcc cttgtttcca	420
agccgccggt ctccacagga gaatgaggac gatgacgacg attaccagat gttcgtccc	480
tccttttctt cctcggatct caactccacc aggttgtgtg aagagaacgc ttcaagtgc	540
ccttgacgtc ggcatctggg cctcatcgaa cccacagaga tctccagctc tggtcacagg	600
atagtccgac gggccagtag tgcaggtgaa agcaacgcag gccctcctga agtaagaatt	660
agagactgtg atgactctca gtactgtccc gggagacagc tgcagaacag tcctcgacca	720
ggaggagaga gggggatgac tccctatggg tcgtctgtag agttgacctg tgatgatata	780
gacctgtct atgataacat aagttttgaa gacttaaggt taatggttgc taagcgggat	840
gaaactgaat gttctttctc caaacatcc agagactctg ttgcgcccaa gactacccca	900
gagttagcct tctcaaagag acaggttagc cacagtacaa gctctctcca ctcaaggaaa	960
gaggcaggcc tcggtggtca agaggcatcc acccaaagcg tacatgaaca ccaggaagt	1020

68/79

```

gaagaaaaca tctatgacac catagggctt ccagaccac catcgatgaa cttgaaccac 1080
agcagccttc atcagcccaa aaggagcacc ttcctgggtc tggaagctga ttttgcacgc 1140
tgtgacagcc tgagaccatt tgtctcccag gatagcctcc agttcagtga ggatgacata 1200
tcttaccacc agggaccctc cgatactgaa tatttgagtt tgttatatga ctctccccgc 1260
tgtaatctgc ctattgcaga taaggctctg tccgacaaat tgtctgaaga agtagatgaa 1320
atctggaatg atctggaaaa ttacatcaag aaaaatgaag acaaatcaag agaccgcctc 1380
cttgcgccct ttcctgtgag caaagacgat gcaccagaga ggctatatgt tgacagcacc 1440
catgagctgg gcagggatac aggacatgcc acatctatgc tggcccttcc tacaagccag 1500
actttcctcc tgcttgggaa gagcagagtt gtcagagcta gcagggccaa ctgctccctg 1560
gataatgaca ttatttcaac agaaggttcc ttcctgagtc ttaaccaact ctctctggcc 1620
agtgatgggc ctctgttgga caatccctat gacctggcca actgcagcct gcccagaca 1680
gaccagaaa accctgacc cgggatggag gtcacagaca agactaagag cagggtcttt 1740
atgatggcca ggcagtatag tcaaaagatc aagaaggtaa atcagatttt gaaagtgaag 1800
agcccagagt tggagcaacc accgtccagt cagcataggc ccagtcacaa agacctggtg 1860
gccatcttgg aagagaagag gcaaggaggg ccgcccattg gtgccaggat cgctgaatat 1920
tccaactgt atgaccagat tgtgttcaga gagacacccc ttaaagctca gaaggatggc 1980
tgggccagcc cccaaggacc caccctccac aggcctgtgt cacctcccca ggcccagggc 2040
gctggtgagg actggctctg gcattcgccc tacagtaacg gagagttggc agatttctct 2100
ccccagacag aacaagactc aaaatcaaaa taccatca cattagagag caccacaaaa 2160
attagccca ggcagttgtc ggggtgcttg tgggtgccgt ctctccaagt gtcggaccct 2220
ctgctgggct ctgtgcagca gagatgcagc gtggttggtca gccagcccca caaagagaac 2280
tcaggtcaga gtcctcttta caactcgtg ggtcgcaaag caatcagcgc taaaccccag 2340
ccttatagca ggcctcagtc atcttctca atcttgataa acaaatctct ggactctatc 2400
aactacccca gtgagacaga gacgaagcaa ctactctctt cacagaaaag tcccagaggc 2460
gcgagccagc aggatttgcc gtcagggcta gcaaactcat gtcaacagga caggggcaaa 2520
cggtcgac tcacgtcca agactcgagc aaggttctcg tggtaaataa aaatttacc 2580
ttaagcgtc aaatagcgac gcagaactac ttttgtaatt tcaaagatcc cgaggagat 2640
gaagatgact atgtggaat caagtcagaa gaggacgaag tgcgtctgga tctctctcca 2700
aggcggggca ggaagtctga cccacagacc cggaccctg actgttcgga tagcatctgt 2760
agccacagca caccttactc tttgaaggag ccagtgagtg gcaggttgg gcttctctct 2820
tacctgacag catgtaagga ctctgataaa ctgaatgatt atctgtggag ggggccctca 2880
cccaatcagc aaaacattgt ccaatctctg agggagaaat ttcagtgtct tagctcaagc 2940
agctttgcc 2949

```

<210> 165

<211> 138

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 165

```

tttatgatgg ccaggcagta tagtcaaaag atcaagaagg taaatcagat tttgaaagtg 60
aaaagcccag agttggagca accaccgtcc agtcagcata ggcccagtca caaagacctg 120
gcggccatct tggaaaag 138

```

69/79

<210> 166
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 166
 gcacactcat tctccgtttt cagactcccg agttggtgga ttgtgggctg gtggagcaaa 60
 ggtggagtag gctctgattt agaaatg 87

<210> 167
 <211> 105
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 167
 cctgatataa aacatccagg aaatctggaa cactatataa aaagagtaaa cctaagaata 60
 atagcaatag aagaaggaga aaaatcccag ctcaaaggcc cgaaa 105

<210> 168
 <211> 5172
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> vector CMV-FosCBPzz

<400> 168
 atgcattagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga 60
 gttccgcgtt acataactta cggtaaattg ccgcctggc tgaccgcca acgaccccg 120
 cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttccattg 180
 acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc aagtgtatca 240
 tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt ggcattatgc 300
 ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat tagtcatcgc 360
 tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc 420
 acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg agttttgttt ggcacaaaaa 480
 tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc ttgacgcaa tgggcggtag 540
 gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctggttta gtgaaccgtc agatccgcta 600
 gcgattacgc caagctcgaa attaacctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc 660
 gcggtggcgg ccgctctagc ccgggcggat cagatcccg cgaaattaat acgactcact 720
 atagggaat tgtgagcgga taacaattcc cctctagaaa taattttgtt taactttaag 780
 aaggagatat accatggcta gcatgactgg tggacagcaa atgggtcgcg gatccggcag 840
 agcgcagagc atcggcagaa ggggcaaagt agagcagcta tctcctgaag aggaagagaa 900

70/79

acggagaatc	cgaagggaac	ggaataagat	ggctgcagcc	aagtgccgga	atcggaggag	960
ggagctgaca	gatacactcc	aagcggagac	agatcaactt	gaagatgaga	agtctgcgtt	1020
gcagactgag	attgccaatc	tgctgaaaga	gaaggaaaaa	ctggagttaa	ttttggcagc	1080
ccaccgacct	gcctgcaaga	tccccgatga	ccttggcctc	gagctcaaga	gaagatggaa	1140
aaagaatttc	atagccgtct	cagcagccaa	ccgctttaag	aaaatctcat	cctccggggc	1200
acttggatca	gattatgata	ttccaactac	tgctagcgag	aatttgtatt	ttcaggttgg	1260
taccaaacc	gcggctcttg	cgcaacacga	tgaagccgta	gacaacaaat	tcaacaaaga	1320
acaacaaaac	gcgttctatg	agatcttaca	tttacctaac	ttaaacgaag	aacaacgaaa	1380
cgcttctatc	caaagttaa	aagatgacct	aagccaaagc	gctaaccctt	tagcagaagc	1440
taaaaagcta	aatgatgctc	aggcgccgaa	agtagacaac	aaattcaaca	agaacaaca	1500
aaacgcgttc	tatgagatct	tacatttacc	taacttaaac	gaagaacaac	gaaacgcctt	1560
catccaaagt	ttaaaagatg	acccaagcca	aagcgctaac	cttttagcag	aagctaaaaa	1620
gctaaatgat	gctcaggcgc	cgaaagtaga	cgcgaaattct	agctctgtac	cccatcacca	1680
tcaccatcac	taagtcgact	tcgatcgccc	ttccaacag	ttgcgcagcc	tgaatggcga	1740
atggagatcc	aatttttaag	tgtataatgt	gttaaaactac	tgattctaata	tgtttgtgta	1800
tttagatttc	acagtcctaa	ggctcatttc	aggccccctca	gtcctcacag	tctgttcatg	1860
atcataatca	gccataccac	atttgtagag	gttttacttg	ctttaaaaaa	cctccacac	1920
ctccccctga	acctgaaaca	taaaatgaat	gcaattgttg	ttgttaactt	gtttattgca	1980
gcttataatg	gttacaata	aagcaatagc	atcacaatt	tcacaaataa	agcatttttt	2040
tcactgcatt	ctagtgttg	tttgtccaaa	ctcatcaatg	tatcttaacg	cgtaaattgt	2100
aagcgttaat	attttgttaa	aattcgcgtt	aaatttttgt	taaatcagct	cattttttta	2160
ccaataggcc	gaaatcgga	aaatccctta	taaatcaaaa	gaatagaccg	agatagggtt	2220
gagtgttggt	ccagtttga	acaagagtcc	actattaaag	aacgtggact	ccaacgtcaa	2280
aggcgaaaa	accgtctatc	aggcgatgg	cccactacgt	gaaccatcac	cctaatacag	2340
ttttttgggg	tcgaggtgcc	gtaaagcact	aatcggaac	cctaaaggga	gccccgatt	2400
tagagcttga	cggggaaagc	cggcgaacgt	ggcgagaaag	gaagggaaga	aagcgaaagg	2460
agcgggcgt	aggcgctgg	caagtgtagc	ggtcacgctg	cgcgtaacca	ccacaccgc	2520
cgcgcttaat	gcgcgctac	aggcgcgctc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	2580
aaccttatt	tgtttatttt	tctaaataca	ttcaaatatg	tatccgctca	tgagacaata	2640
acctgataa	atgcttcaat	aatattgaaa	aaggaagaat	cctgaggcgg	aaagaaccag	2700
ctgtggaatg	tgtgtcagtt	agggtgtgga	aagtccccag	gctccccagc	aggcagaagt	2760
atgcaaagca	tgcattctaa	ttagtcagca	accaggtgtg	gaaagtcccc	aggctcccca	2820
gcaggcagaa	gtatgcaaag	catgcatctc	aattagtcag	caaccatagt	cccgcctcta	2880
actccgcca	tcccgcct	aactccgccc	agttccgccc	attctccgccc	ccatggctga	2940
ctaatttttt	ttatttatgc	agaggccgag	gccgcctcgg	cctctgagct	attccagaag	3000
tagtgaggag	gcttttttgg	aggcctaggg	ttttgcaaag	atcgatcaag	agacaggatg	3060
aggatcggtt	cgcatgattg	aacaagatgg	attgcacgca	ggttctccgg	ccgcttgggt	3120
ggagaggcta	ttcggctatg	actgggcaca	acagacaatc	ggctgctctg	atgccgccgt	3180
gttccggctg	tcagcgcagg	ggcgcccggt	tctttttgtc	aagaccgacc	tgctccggtgc	3240
cctgaatgaa	ctgcaagacg	aggcagcgcg	gctatcgttg	ctggccacga	cgggcgttcc	3300
ttgcgcagct	gtgctcgacg	ttgtcactga	agcgggaagg	gactggctgc	tattgggcga	3360
agtgccgggg	cagatctcc	tgtcatctca	ccttgctcct	gccgagaaag	tatccatcat	3420
ggctgatgca	atgcggcggc	tgcatacgct	tgatccggct	acctgccc	tcgaccacca	3480

71/79

```

agcgaaacat cgcacgagc gagcacgtac tcggatggaa gccggtcttg tcgacagga 3540
tgatctggac gaagaacatc aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc 3600
gagcatgccc gacggcgagg atctcgtcgt gacccatggc gatgcctgct tgccgaatat 3660
catggtggaa aatggccgct tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga 3720
ccgctatcag gacatagcgt tggtaccgc tgatattgct gaagaacttg gcggcgaatg 3780
ggctgaccgc ttctcgtgc ttacggtat cgccgctccc gattcgagc gcacgcctt 3840
ctatgcctt cttgacgagt tctctgagc gggactctgg gggtcgaaat gaccgaccaa 3900
gcgacgcccc acctgccatc acgagatttc gattccaccg ccgccttcta tgaaaggttg 3960
ggcttcgga tegtittccg ggacgccggc tggatgatcc tccagcgcg ggatctcatg 4020
ctggagttct tcgccaccc tagggggagg ctaactgaaa cacggaagga gacaataccg 4080
gaaggaaccc gcgctatgac ggcaataaaa agacagaata aaacgcacgg tgttgggtcg 4140
tttgttcata aacgggggt tcggtcccag ggctggcact ctgtcgatac cccaccgaga 4200
ccccattggg gccaatcgc ccgcgtttct tcttttccc caccacccc cccaagttcg 4260
ggtgaaggcc cagggtcgc agccaacgct ggggcggcag gccctgccat agcctcaggt 4320
tactcatata tacttttagat tgatttaaaa ctctattttt aatttaaaag gatctaggtg 4380
aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga 4440
gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta 4500
atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa 4560
gagctaccaa ctctttttcc gaaggttaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact 4620
gtccttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca 4680
tacctcgtc tgctaactct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt 4740
accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg 4800
ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag 4860
cgtgagctat gaaaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa aggcggacag gtatccggtg 4920
agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc caggggaaa cgcctggtat 4980
ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg 5040
tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc 5100
ttttgctggc cttttgtca catgttctt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac 5160
cgtattaccg cc 5172

```

<210> 169

<211> 70

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PCR primer 5' SP6(029)T7-FosCBPzz

<400> 169

```

gaatttaggt gacactatag aacaacaaca acaacaaca acaacaaaat ggctagcatg 60
actggtggac 70

```

<210> 170

72/79

<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PCR primer 3' FosCBPzz

<400> 170
ggatctccat tcgccattca 20

<210> 171
<211> 89
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> DNA bait template DNA-Fos/Jun

<400> 171
cgactctgac ggcagtttac gtgactcatg agtcatgact catgagtcac gactcatgag 60
tcacgttaga acgcggctac aattaatac 89

<210> 172
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PCR primer 5' DNA

<400> 172
cgactctgac ggcagtttac g 21

<210> 173
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PCR primer 3' DNA

<400> 173
gtattaattg tagccgcgtt ctaacg 26

73/79

<210> 174

<211> 67

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> main chain of adaptor (029)

<400> 174

gaacaacaac aacaacaac aacaacaaa tgactggtgg acagcaaatg ggtgcggccg 60
cgaattc 67

<210> 175

<211> 68

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> main chain of adaptor (029-2)

<400> 175

gaacaacaac aacaacaac aacaacaaa tggctagcat gactggtgga cagcaaatgg 60
cgaattc 68

<210> 176

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> random primer for reverse transcription

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(32)

<223> n = a, t, g or c

<400> 176

tcacgtcct tgtagtcaag cttnnnnnnn nn 32

<210> 177

<211> 58

74/79

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PCR 5' primer (029)

<400> 177

ggaagatcta tttaggtgac actatagaac aacaacaaca acaacaaca acaaaatg 58

<210> 178

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PCR 3' primer

<400> 178

ttttttttct tgtcgtcatc gtcctttagt tcaagc 36

<210> 179

<211> 3851

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> pDrive vector

<400> 179

gcgcccaata	cgcaaaccgc	ctctccccgc	gcgttgccgc	attcattaat	gcagctggca	60
cgacaggttt	cccgactgga	aagcgggcag	tgagcgcaac	gcaattaatg	tgagtttagct	120
cactcattag	gcaccccagg	ctttacactt	tatgcttccg	gctcgtatgt	tgtgtggaat	180
tgtgagcgga	taacaatttc	acacaggaaa	cagctatgac	catgattacg	ccaagctcta	240
atagcactca	ctatagggaa	agctcggtac	cacgcatgct	gcagacgcgt	tacgtatcgg	300
atccagaatt	cgtgatatac	gaattcgctc	acaagcttct	cgagcctagg	ctagctctag	360
accacacgtg	tgggggcccc	agctcgcggc	cgctgtattc	tatagtgtca	cctaaatggc	420
cgcacaattc	actggccgtc	gttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	ggcgttaccc	480
aacttaatcg	ccttgacgca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	gaagaggccc	540
gcaccgatcg	cccttcccaa	cagttgcgca	gcctgaatgg	cgaatggaaa	ttgtaagcgt	600
taatattttg	ttaaaattcg	cgttaaattt	ttgttaaata	agctcatttt	ttaaccaata	660
ggccgaaatc	ggcaaaatcc	cttataaatc	aaaagaatag	accgagatag	ggttgagtgt	720
tgttccagtt	tggaacaaga	gtccactatt	aaagaacgtg	gactccaacg	tcaaagggcg	780
aaaaaccgtc	tatcagggcg	atggcccact	acgtgaacca	tcaccctaata	caagtttttt	840

75/79

ggggtcgagg	tgccgtaaa	cactaaatcg	gaaccctaaa	gggagcccc	gatttagagc	900
ttgacgggga	aagccggcga	acgtggcgag	aaaggaaggg	aagaaagcga	aaggagcggg	960
cgctagggcg	ctggcaagt	tagcggtcac	gctgcgcgta	accaccacac	ccgccgcgct	1020
taatgcgcg	ctacagggcg	cgtcaggtgg	cacttttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	1080
tatttgttta	tttttctaaa	tacattcaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	1140
ataaatgctt	caataatatt	gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	1200
ccttattccc	ttttttgcgg	cattttgcct	tcctgttttt	gctcacccag	aaacgctggt	1260
gaaagtaaaa	gatgctgaag	atcagttggg	tgacagagt	ggttacatcg	aactggatct	1320
caacagcggg	aagatccttg	agagttttcg	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	1380
ttttaaggtt	ctgctatgtg	gcgcggtatt	atcccgtatt	gacgccgggc	aagagcaact	1440
cggtcgccgc	atacactatt	ctcagaatga	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	1500
gcattcttac	gatggcatga	cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	1560
taacactgcg	gccaacttac	ttctgacaac	gatcggagga	ccgaaggagc	taaccgcttt	1620
tttgacaaac	atgggggatc	atgtaactcg	ccttgatcgt	tggaaccggg	agctgaatga	1680
agccatacca	aacgacgagc	gtgacaccac	gatgcctgta	gcaatggcaa	caacgttgcg	1740
caaactatta	actggcgaac	tacttactct	agcttcccgg	caacaattaa	tagactggat	1800
ggaggcggat	aaagtgtcag	gaccacttct	gcgtcgggcc	cttcgggctg	gctggtttat	1860
tgctgataaa	tctggagccg	gtgagcgtgg	gtctcgggt	atcattgcag	cactggggcc	1920
agatggtaag	ccctcccgta	tcgtagttat	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	1980
tgaacgaaat	agacagatcg	ctgagatagg	tgctcactg	attaagcatt	ggtaactgtc	2040
agaccaaggt	tactcatata	tacttttagat	tgatttaaaa	cttcattttt	aatttaaaag	2100
gatctaggtg	aagatccttt	ttgataatct	catgaacaat	aaaactgtct	gcttacataa	2160
acagtaatac	aaggggtgtt	atgagccata	ttcaacggga	aacgtcttgc	tctaggccgc	2220
gattaaattc	caacatggat	gctgatttat	atgggtataa	atgggctcgc	gataatgtcg	2280
ggcaatcagg	tgcgacaatc	tatcgattgt	atgggaagcc	cgatgcgcca	gagttgtttc	2340
tgaaacatgg	caaaggtagc	gttgccaatg	atgttacaga	tgagatggtc	agactaaact	2400
ggctgacgga	atttatgcct	cttcgacca	tcaagcattt	tatccgtact	cctgatgatg	2460
catggttact	caccactgcg	atcccggga	aaacagcatt	ccaggtatta	gaagaatata	2520
ctgattcagg	tgaaaatatt	gttgatgcgc	tggcagtgtt	cctgcgccgg	ttgcattcga	2580
ttcctgtttg	taattgtcct	tttaacagcg	atcgcgattt	tcgtctcgct	caggcgcaat	2640
cacgaatgaa	taacggtttg	gttgatgcga	gtgattttga	tgacgagcgt	aatggctggc	2700
ctgttgaaac	agtctggaac	gaaatgcata	aacttttgcc	attctcaccg	gattcagtcg	2760
tactcatgg	tgattttctc	cttgataacc	ttatttttga	cgaggggaaa	ttaataggtt	2820
gtattgatgt	tggacgagtc	ggaatcgag	accgatacca	ggatcttgcc	atcctatgga	2880
actgctcgg	tgagttttct	ccttcattac	agaaacggct	ttttcaaaaa	tatggtattg	2940
ataatcctga	tatgaataaa	ttgcagtttc	atttgatgct	cgatgagttt	ttctaagaat	3000
taattcatga	ccaaaatccc	ttaacgtgag	tttcgttcc	actgagcgtc	agaccccgt	3060
gaaaagatca	aaggatcttc	ttgagatcct	ttttttctgc	gcgtaatctg	ctgcttgcaa	3120
acaaaaaac	caccgtacc	agcgggtggt	tgtttgccgg	atcaagagct	accaactctt	3180
tttcggaagg	taactggctt	cagcagagcg	cagataccaa	atactgtcct	tctagtgtag	3240
ccgtagttag	gccaccactt	caagaactct	gtagcaccgc	ctacatacct	cgctctgcta	3300
atcctgttac	cagtggctgc	tgccagtggc	gataagtcgt	gtcttaccgg	gttgactca	3360
agacgatagt	taccggataa	ggcgcagcgg	tcgggctgaa	cggggggttc	gtgcacacag	3420

76/79

```

cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa 3480
agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg gacagggtatc cggtaagcgg cagggtcgga 3540
acaggagagc gcacgagga gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc 3600
gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc 3660
ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt 3720
gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt 3780
gagtgaactg ataccgctcg ccgcagccga acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag 3840
gaagcggag a 3851

```

<210> 180

<211> 58

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer 5'F3

<400> 180

```

ggaagatcta tttaggtgac actatagaac aacaacaaca acaacaaca acaaaatg 58

```

<210> 181

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer 3'R3

<400> 181

```

ttttttttct cgagcttgtc gtcacgc 27

```

<210> 182

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer Optn_F

<400> 182

```

tgggcatcgt ctcagaac 18

```

<210> 183

77/79

<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer Optn_R

<400> 183
tgtgggtgta gggcagtt 18

<210> 184
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer SNAP19_F

<400> 184
aaaccctgct gcgtctaa 18

<210> 185
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer SNAP19_R

<400> 185
atcatggatt gaagggcta 19

<210> 186
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer C130020M04RIK_F

<400> 186
ggtgtectcc ctggaaa 17

78/79

<210> 187
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer C130020M04RIK_R

<400> 187
tgggcaatct ttatgagcta

20

<210> 188
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer Rattus FLJ32000_F

<400> 188
aagagcgac caatgaca

18

<210> 189
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer Rattus FLJ32000_R

<400> 189
tcttgaatgg tctcatcct

20

<210> 190
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer 5' M13_F

<400> 190
gttttccag tcacgacgtt g

21

79/79

<210> 191
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer 3'M13_R

<400> 191
gaaacagcta tgaccatgat tacg

24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14749

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ C12N15/09, C07K14/47, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/566 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ C12N15/09, C07K14/47, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/566 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, BIOSIS, MEDLINE, WPIDS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	SABURI, S. et al., The Trophinin Gene Encodes a Novel Group of MAGE Proteins, Magphinins, and Regulates Cell Proliferation during Gemetogenesis in the Mouse., J.Biol.Chem., December 2001, Vol.276, pages 49378 to 49389	4, 5/1-3, 6-8
X/A	SABURI, S. et al., the DDBJ/EMBL/GenBank databases [online] Submitted (17-SEP-1999), Accession No.AB032477	4, 5/1-3, 6-8
A	WO 02/48347 A (Keio University), 20 June, 2002 (20.06.02), & EP 1350845 A1 & JP 2002-176987 A & US 2004/18536 A	1-8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 March, 2004 (16.03.04)		Date of mailing of the international search report 30 March, 2004 (30.03.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14749

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6228994 B (Mitsubishi Chem. Corp.), 08 May, 2001 (08.05.01), & JP 11-322781 A & US 2001/33972 A	1-8
A	CHINENOV, Y. et al., Close encounters of many kinds: Fos-Jun interactions that mediate transcription regulatory specificity., Oncogene. 30 April, 2001 (30.04.01), Vol.20(19), pages 2438 to 2452	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14749

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

There are 17 groups of inventions in total respectively having protein families interacting with c-Fos protein, i.e.,
claims 1 to 8, 9 to 16, 17 to 24, 25 to 32, 33 to 40, 41 to 48, 49 to 56, 57 to 64, 65 to 72, 73 to 80, 81 to 88, 89 to 96, 97 to 104, 105 to 112, 113 to 126 and 127 to 132.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-8

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO3/14749

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.¹ C12N 15/09, C07K 14/47, C12Q 1/02, C12Q 1/68, G01N 33/15, G01N 33/50, G01N 33/53, G01N 33/566

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.¹ C12N 15/09, C07K 14/47, C12Q 1/02, C12Q 1/68, G01N 33/15, G01N 33/50, G01N 33/53, G01N 33/566

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
BIOSIS, MEDLINE, WPIDS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X/ A	SABURI, S. et al., The Trophinin Gene Encodes a Novel Group of MAGE Proteins, Magphinins, and Regulates Cell Proliferation during Gametogenesis in the Mouse. J. Biol. Chem., Dec 2001, vol. 276, pp. 49378-49389	4, 5/ 1-3, 6-8
X/ A	SABURI, S. et al., the DDBJ/EMBL/GenBank databases [online] Submitted (17-SEP-1999), Accession No. AB032477.	4, 5/ 1-3, 6-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 03. 2004

国際調査報告の発送日

30. 3. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8916

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

長井 啓子

4N

9123

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 02/48347 A(Keio University)2002.06.20 & EP 1350845 A1 & JP 2002-176987 A & US 2004/18536 A	1-8
A	US 6228994 B(Mitsubishi Chem. Corp.)2001.05.08 & JP 11-322781 A & US 2001/33972 A	1-8
A	CHINENOV, Y. et al., Close encounters of many kinds: Fos-Jun interactions that mediate transcription regulatory specificity. Oncogene. 2001 Apr 30, vol.20(19), pp.2438-2452	1-8

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

c-Fos 蛋白質と相互作用する蛋白質ファミリーごとに、
請求の範囲 1-8, 9-16, 17-24, 25-32, 33-40, 41-48, 49-56, 57-64, 65-72, 73-80, 81-88, 89-96; 97-104, 105-112, 113-126, 127-132 の計 17 発明がある。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲 1-8

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.